



**FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

# **A Nanotecnologia Aplicada ao Tratamento do Glaucoma**

**Mariana Reis Santos**

**Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**Trabalho efetuado sob orientação de:**  
Professora Doutora Ana Margarida Grenha

**2014**

Universidade do Algarve  
Faculdade de Ciências e Tecnologia  
Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas

# **A Nanotecnologia**

## **Aplicada ao Tratamento do**

### **Glaucoma**

**Mariana Reis Santos**

**Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**Trabalho efetuado sob orientação de:**  
Professora Doutora Ana Margarida Grenha

**2014**

# **A Nanotecnologia Aplicada ao Tratamento do Glaucoma**

## **Declaração de autoria de trabalho**

Declaro ser o(a) autor(a) deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Copyright Mariana Santos.

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais e irmão, pois foram um dos grandes pilares ao longo destes 5 anos de curso, foram eles que me apoiaram nos momentos bons e maus e que sempre me ajudaram quando foi preciso.

Um agradecimento especial envio também a professora Ana Grenha, pela dedicação e empenho nos seus alunos ao longo do curso, e especialmente na disponibilidade e apoio prestados como orientadora na fase final desta etapa. À Dra. Paula, ao Dr. Jaime, à Adriana, à Andreia e à Vânia por terem sido nos últimos 4 meses, professores, colegas e amigos. Realço o companheirismo que tiveram para comigo e a preocupação de me ensinar tudo o que de bom tem a profissão farmacêutica. Um especial agradecimento devo também a toda a equipa do hospital de St. António, por me terem ensinado e demonstrado todo o trabalho que é realizado nos serviços farmacêuticos desta instituição.

Gostaria de agradecer a todos os meus amigos “farenses”, que tornam fantásticos estes 5 anos. Foi através da união que nos caracteriza que crescemos, estudamos, nos divertimos e soubemos ultrapassar todas as adversidades que nos surgiram.

Por fim, e não menos importante gostaria de agradecer a todos os meus familiares e amigos que ao longo destes 5 anos me deram todo o apoio necessário.

*“Algo só é impossível até que alguém duvide e resolva provar ao contrário.”*

**Albert Einstein**

## **Resumo/Abstract**

### **RESUMO**

A visão é tida como um dos mais importantes sentidos que permite ao ser humano aprimorarem a percepção do mundo que os rodeia. O olho é o órgão do Homem responsável por esta capacidade, no entanto pode ser afetado por diversas doenças. Uma das doenças com maior prevalência de cegueira é o glaucoma.

O glaucoma é uma doença do foro ocular caracterizada por perda da sensibilidade e do campo visual devido a alterações no nervo ótico, sendo a sua principal característica o aumento da pressão intraocular. O objetivo do tratamento consiste em reduzir a pressão intraocular para um nível em que os danos no nervo ótico deixam de se desenvolver.

A nanotecnologia oferece atualmente um novo conjunto de ferramentas para o tratamento de doenças oculares. Entre os principais nanosistemas que se têm proposto como veículos para a administração de fármacos por via ocular contam-se nanopartículas, lipossomas e dendrímeros. O encapsulamento de fármacos como brinzolamida, pilocarpina, dorzolamida e brimonidina em nanopartículas proporcionam uma melhor eficácia de tratamento, uma vez que proporcionam uma redução da IOP mais eficiente. Fármacos como o latanoprost, a pilocarpina e o timolol têm sido encapsulados em lipossomas e estudado o seu efeito como redutores da IOP, tendo sido demonstrados que estas formulações apresentam uma maior eficácia de tratamento, quando comparadas com as fórmulas convencionais. Tem também sido estudada o encapsulamento de brimonidina e timolol em formulações de dendrímeros tendo revelado um forte potencial, uma vez que o transporte trans-corneal e a absorção da formulação pelos tecidos é mais eficaz.

Esta monografia pretende, desta forma, efetuar uma revisão relativamente ao conhecimento e tratamento do glaucoma, bem como as potencialidades que as nanopartículas, lipossomas e dendrímeros podem oferecer na administração de fármacos usados no tratamento do glaucoma.

**Palavras-chave:** glaucoma, tratamento, nanotecnologia, nanopartículas, lipossomas, dendrímeros

## **ABSTRACT**

Vision is considered one of the most important senses that enables man to hone the perception of the world around them. The eye is the organ of the man responsible for this ability, however may be affected by various diseases. One of the diseases with the highest prevalence of blindness is glaucoma.

Glaucoma is a disease characterized by loss of sensation and the visual field due to changes in the optic nerve, and its main feature increased intraocular pressure. The goal of treatment is to reduce intraocular pressure to a level that damages the optic nerve not progress.

Nanotechnology is currently offering a new set of tools for the treatment of eye diseases. Among the main nanosystems which have proposed as vehicles for ocular drug delivery include up nanoparticle, liposome and dendrimer. The encapsulation of drugs such as brinzolamide, pilocarpine, brimonidine and dorzolamide nanoparticles provide a better treatment effectiveness, since it provides a more efficient reduction of IOP. Drugs such as latanoprost, timolol and pilocarpine have been encapsulated into liposomes and studied their effect as reducing IOP, having been demonstrated that these formulations have a higher treatment efficacy compared with conventional formulations. Encapsulation has brimonidine and timolol also been studied in formulations having dendrimers revealed a high potential, since the trans-corneal absorption and transport in the tissues of the formulation is most effective.

This monograph intends thereby carrying out a review in relation to the knowledge and treatment of glaucoma as well as the potential that nanoparticles, liposomes and dendrimers may offer in the administration of the drugs used to treat

**Keywords:** glaucoma, treatment, nanotechnology, nanoparticles, liposomes, dendrimers

## Índice Geral

Resumo/Abstract .....	v
Índice Geral .....	vii
Índice de Figuras .....	ix
Lista de Abreviaturas.....	xi
1. Introdução.....	1
2. Glaucoma .....	3
2.1. Contextualização da doença.....	3
2.2. Tratamentos atuais .....	6
2.2.1. Análogos de prostaglandinas .....	6
2.2.2. Bloqueadores beta.....	7
2.2.3. Agonistas alfa .....	8
2.2.4. Inibidores da anidrase carbónica .....	8
2.2.5. Outros tratamentos.....	8
3. Nanotecnologia e sistemas de administração nanotecnológicos .....	10
3.1. Nanopartículas .....	11
3.2. Lipossomas .....	13
3.3. Dendrímeros.....	14
4. Aplicação de nanossistemas no tratamento do glaucoma .....	15
4.1. O olho como alvo para a administração de fármacos .....	15
4.1.1. Limitações dos tratamentos oculares .....	15
4.1.2. Critérios para o desenvolvimento de formulações para aplicação ocular .....	18
4.1.3. Vias de administração ocular.....	20
4.2. Nanopartículas .....	23
4.2.1. Nano partículas para administração ocular.....	23
4.2.2. Nanopartículas aplicadas ao tratamento do glaucoma.....	23
4.3. Lipossomas .....	30
4.3.1. Lipossomas como veículo para administração ocular .....	30
4.3.2. Aplicação de lipossomas no tratamento do glaucoma.....	31
4.4. Dendrímeros.....	33
4.4.1. Dendrímeros e a aplicação ocular.....	33
4.4.2. Dendrímeros usados no tratamento do glaucoma.....	34

5. Perspetivas futuras de tratamento do glaucoma .....	36
5.1. Novos agentes .....	36
7. Referências .....	42

## Índice de Figuras

Figura 1.1: Estrutura anatômica do olho .....	1
Figura 2.1: Estrutura anatômica de um olho identificado com glaucoma primário .....	3
Figura 2.2: Estrutura anatômica de um olho identificado com glaucoma de ângulo fechado .....	4
Figura 2.3: Via de biossíntese das prostaglandinas .....	7
Figura 3.1: Representação esquemática das diferentes nanopartículas .....	10
Figura 3.2: Diferentes tipos de nanopartículas .....	12
Figura 4.1: Barreiras biológicas para administração tópica de moléculas bio terapêuticos no olho .....	16
Figura 4.2: Diferentes vias de administração de medicamentos no globo ocular .....	20
Figura 4.3: Percentagem de diminuição da IOP após a administração de diferentes formulações contendo BLZ, tendo como controlo uma solução salina e um branco .....	25
Figura 4.4: Percentagem de diminuição da IOP após administração da formulação comercial e LCNP-PN .....	27
Figura 4.5: Representação das estruturas químicas da quitina e quitosano .....	28
Figura 4.6: Comparação da eficácia terapêutica de DZR preparada com nanopartículas de OCM-CS e CS, a formulação existente no mercado e um grupo controlo .....	29
Figura 4.7: Representação gráfica da variação de IOP em função do tempo .....	30
Figura 4.8: Estrutura química da dipalmitoilfosfatidilcolina .....	31
Figura 4.9: Ilustração dos resultados obtidos através de estudos ex vivo relativos ao transporte trans-corneal do fármaco bem como a sua absorção pelos tecidos oculares .	35
Figura 5.1: Novos agentes terapêuticos indicados para a redução da IOP .....	37

## **Índice de Tabelas**

Tabela 4.1: Critérios para a seleção dos parâmetros de formulação ideais ao desenvolvimento de um sistema de administração de fórmulas farmacêuticas oftálmicas .....	19
Tabela 4.2: Vantagens e Desvantagens das diferentes vias de administração oftálmica	22

## **Lista de Abreviaturas**

ACG: Glaucoma de ângulo fechado

ANGPTL: Moléculas de angiopoetina

BLZ: Brinzolamida

BRB: Barreira hemato-retiniana

COM-CS: quitosano 6-O-carboximetil

CS: Quitosano

CTGF: Fator de crescimento do tecido conjuntivo

DPPC: dipalmitoilfosfatidilcolina

DRZ: Dorzolamida

EGS: Sociedade Europeia do Glaucoma

FDA: Food and Drug Administration

ILM: membrana limitante interna

IOP: Pressão Intraocular

LCBP: Nanopartículas líquidas-cristalinas

LUV: Vesículas unilamelares

MLV: Vesículas multilamelares

MMC: Mitomicina C

NO: Óxido nítrico

PC: fosfatidilcolinas

PEG : poli(etileno-glicol)

PGA: Análogos de prostaglandinas

PLGA: Poli (lático-co-glicólido)

PN: Pilocarpina

POAG: Glaucoma primário de ângulo aberto

TGF- $\beta$ : Fatores de crescimento

UV: Ultravioleta

WHO: Organização Mundial de Saúde

## 1. Introdução

O ser humano possui capacidades fisiológicas importantes que permitem obter uma melhor percepção e sensação do mundo que o rodeia, as quais são geralmente chamadas de sentidos [1]. São cinco os sentidos conhecidos no ser humano, a visão, o olfato, a audição, o tato e o paladar.

A visão é um sentido de valor indiscutível. O processamento visual que é efetuado pelo cérebro produz uma imagem sensorial que é normalmente reconhecida como visão. A percepção do mundo e de tudo o que está ao seu redor tal como: ler palavras e números, reconhecer pessoas, perceber cores, ter a noção de profundidade é efetuada através da visão [2].

O órgão responsável pela visão é o olho, que tem como função captar a luz, através da córnea e convertê-la em impulsos que serão dirigidos pelo nervo ótico ao cérebro, onde serão processados em imagens [3]. Como se pode observar na figura 1.1, e este órgão apresenta várias estruturas, entre elas a córnea, a íris, a pupila, o nervo ótico, a conjuntiva e o cristalino.

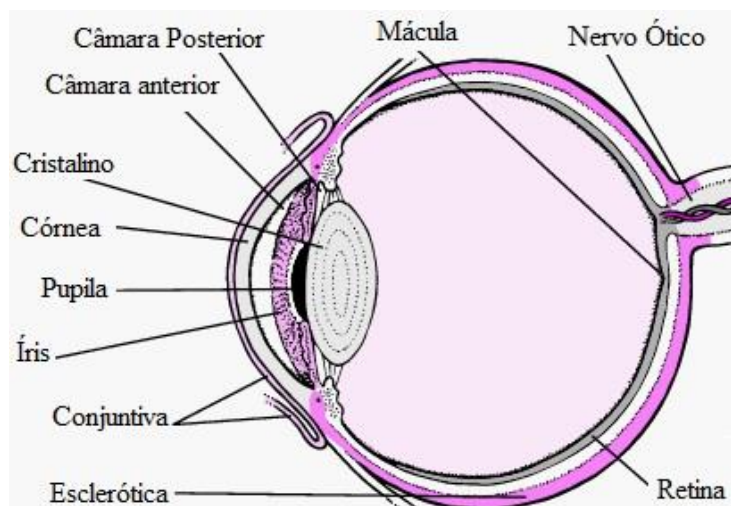


Figura 1.1: Estrutura anatómica do olho [3].

A córnea é a estrutura mais superficial do olho, é uma camada transparente situada sobre a periferia deste que tem como função a refração dos raios de luz. É também uma forma de proteção do olho e um meio de nutrição do mesmo [3,4].

A pupila é o componente por onde os raios de luz se dirigem em direção ao cérebro, o seu tamanho é variável, estando controlado por músculos existentes no olho.

A íris encontra-se em volta da pupila, tem como função controlar a quantidade de raios que atravessam o olho, ficando contraída ou dilatada dependendo da quantidade de luz que esta em contacto com o mesmo, a íris tem também como função dar cor ao olho [3].

A retina é um tecido que se encontra na parte de trás do olho e que é bastante sensível à luz. É o local onde os raios de luz que atravessaram a íris são focados e transformados em impulsos que serão enviados para o cérebro através do nervo ótico, sendo assim transformados em imagens. Uma retina saudável é um ponto fulcral para uma visão perfeita [5].

Quando todos os constituintes funcionam dentro da normalidade a imagem que nos chega ao cérebro é uma imagem nítida e que demonstra a realidade, porém existem diversas doenças do foro ocular que impedem as pessoas de ter uma visão real daquilo que presenciam. O que mais afeta a população mundial são os defeitos refrativos, como por exemplo a miopia, a hipermetropia, o astigmatismo e a presbiopia. No entanto, outras doenças podem afetar a população como a catarata, o estrabismo, a retinopatia diabética e o glaucoma [6].

Esta monografia vai incidir sobre o glaucoma, uma doença ocular caracterizada por um aumento da pressão intraocular (IOP) que leva gradualmente a uma diminuição da visão devido aos danos que provoca no nervo ótico [6]. Ao longo desta monografia será feita uma sinopse da doença onde serão abordados aspetos como as causas, o diagnóstico e o tratamento no capítulo 2. No capítulo 3, vai ser feita uma breve introdução ao tema da nanotecnologia e a sua aplicação no tratamento do glaucoma, enquanto o capítulo 4 irá ser uma descrição dos tratamentos existentes que envolvem o uso da nanotecnologia. Por fim, o capítulo 5 evidenciará os tratamentos futuros de que esta doença poderá vir a beneficiar.

## 2. Glaucoma

### 2.1. Contextualização da doença

O glaucoma é uma doença neuro degenerativa progressiva, identificada como a principal doença oftalmológica e a causa mais comum de cegueira a nível mundial [7]. É uma doença caracterizada por mudanças na estrutura da retina e do nervo ótico, que levam a uma perda severa da visão, podendo mesmo levar a casos de cegueira se não houver um tratamento atempado [8].

O glaucoma pode ser dividido em dois tipos principais: o glaucoma primário de ângulo aberto (POAG) e o glaucoma de ângulo fechado (ACG) [8]. O glaucoma primário é essencialmente caracterizado pelo aumento da pressão intraocular, normalmente bilateral, mas assimétrico. É comumente identificado por dano no nervo ótico, como ilustrado na figura 2.1, por modificações no disco ótico, na retina e na acuidade visual. É uma doença com características silenciosas, que se desenvolve lentamente e sem percepção da perda de visão, mas quando detetada precocemente é possível reduzir a velocidade de progressão da doença com fármacos ou tratamento cirúrgico, embora nunca se obtenha uma cura total [8-10].

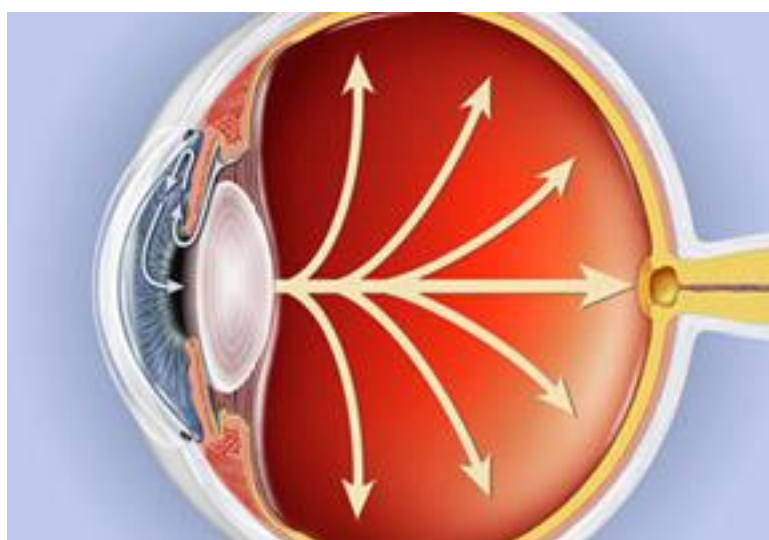


Figura 2.1: Estrutura anatómica de um olho identificado com glaucoma primário [11].

Nos casos de glaucoma de ângulo fechado, o que acontece é que há um bloqueio do canal responsável pela drenagem do humor aquoso, o que irá resultar num aumento da

pressão intraocular, como é possível verificar na figura 2.2 [8]. Como sintomas deste tipo de glaucoma podem destacar-se a visão muito turva, náuseas, dores de cabeça e dores nos olhos. De uma forma geral, este tipo de glaucoma é tratado com cirurgia a laser com o objetivo de desobstruir os canais de drenagem para que o humor aquoso possa fluir de forma natural. Todavia serão sempre indicados exames de rotina de modo a diagnosticar precocemente a possibilidade de surgir outra forma de glaucoma [12].

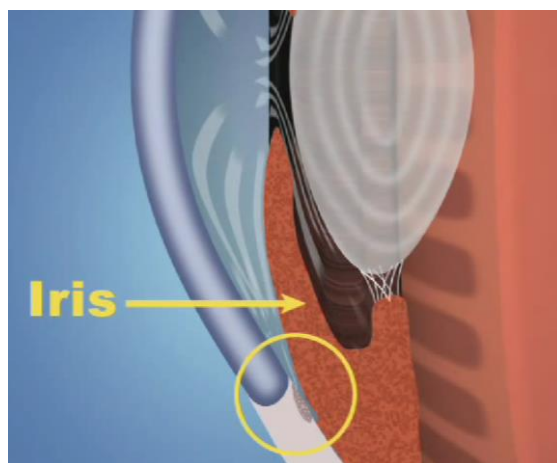


Figura 2.2: Estrutura anatómica de um olho identificado com glaucoma de ângulo fechado [10].

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO), o número estimado de pessoas invisuais devido ao glaucoma primário é de cerca de 4,5 milhões, o que representa cerca de 12% do total de casos de cegueira [13].

Algumas pessoas possuem um risco mais elevado de desenvolver glaucoma. Este risco depende de diversos fatores entre eles a idade, sendo que pessoas com mais de 60 anos apresentam um risco acrescido de obter glaucoma; questões hereditárias, a história familiar aumenta de 4 a 9 vezes o risco desenvolver a doença; a população asiática também apresenta uma elevada propensão para a doença; pessoas com a córnea fina também têm uma maior tendência para desenvolver glaucoma e por último pessoas que tenham predisposição para ter uma pressão intraocular elevada [10,14,15].

Sendo o glaucoma uma doença de evolução silenciosa é precioso o rastreio com exames de rotina e caso existam suspeitas da doença deve-se recorrer a exames mais específicos, para que os sintomas sejam detetados e tratados o mais rapidamente possível

[8]. Existem diversos métodos para o diagnóstico do glaucoma, tais como o teste de tonometria, de oftalmoscopia, de paquimetria, de perimetria e de gonioscopia [8,15].

a) **Tonometria:** O teste de tonometria é utilizado para medir a pressão intraocular do olho. Para a medição da pressão intraocular, este método utiliza um instrumento chamado de tonómetro. Caso a pressão intraocular apresente um valor superior a 21 mmHg há suspeita de glaucoma e é necessário a realização de mais testes, pois a pressão intraocular elevada não é por si só identificativo da doença [8].

b) **Oftalmoscopia:** A oftalmoscopia é o exame utilizado para verificar a cor e a forma do nervo ótico. Através deste exame é possível verificar o estado do nervo ótico e assim determinar se o olho está a ser afetado pela doença. Não sendo este um exame determinante para o diagnóstico da doença, caso exista deformação no nervo ótico, mais exames deverão ser efetuados para um diagnóstico conclusivo [8, 16].

c) **Paquimetria:** A espessura da córnea é uma das causas de glaucoma. Para determinar a sua espessura é utilizado o teste de paquimetria, este é um teste importante para despistar a doença, uma vez que a espessura da córnea pode influenciar a pressão intraocular [15].

d) **Perimetria:** O teste de perimetria é usado para estudar o campo visual do doente e verificar assim qual o estado da sua visão periférica. A visão periférica é um dos primeiros aspetos a deteriorar-se na presença de glaucoma, portanto é um teste pertinente no despiste do glaucoma [8].

e) **Gonioscopia:** Por último, a gonioscopia avalia o ângulo que é formado entre a íris e a córnea. Este é um exame bastante importante e indispensável pois, dependendo do tipo de ângulo, é possível classificar o tipo de glaucoma (aberto ou fechado) [15].

Depois de todos os testes efetuados a principal preocupação é proteger a visão e impedir a progressão da doença, daí comumente se afirmar que a chave da doença é o diagnóstico precoce.

## **2.2. Tratamentos atuais**

O tratamento do glaucoma passa, principalmente, pelo impedimento da progressão da doença. Para tal existem atualmente diversos tipos de tratamento, tais como cirurgias a laser e aplicação de colírios. No algoritmo de tratamento da Sociedade Europeia do Glaucoma (EGS), a primeira linha de tratamento do glaucoma é a redução da pressão intraocular, impedindo assim o desenvolvimento mais acentuado da doença [14, 17].

Atualmente existem duas hipóteses de tratamento do glaucoma, reduzir a produção de humor aquoso, com o uso de betabloqueadores, inibidores da anidrase carbónica e fármacos simpaticomiméticos, ou aumentar a drenagem de humor aquoso, utilizando derivados das prostaglandinas e fármacos simpaticomiméticos. A vantagem do uso destes fármacos é normalizar o funcionamento do humor aquoso pois esta é a principal causa da elevada pressão intraocular e uma preservação e manutenção da produção e função do humor aquoso [16].

De acordo com a EGS os fármacos de primeira escolha para o tratamento do glaucoma são análogos de prostaglandinas, bloqueadores beta, agonistas alfa e inibidores da anidrase carbónica [16].

### **2.2.1. Análogos de prostaglandinas**

As prostaglandinas, tal como é possível verificar através da figura 2.3, são derivados do ácido araquidónico e tem funções homeostáticas e a resposta inflamatória. Eles são produzidos a partir de araquidonato pela ação da ciclo-oxigenase (COX). A sua biossíntese é bloqueado por fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) [18].

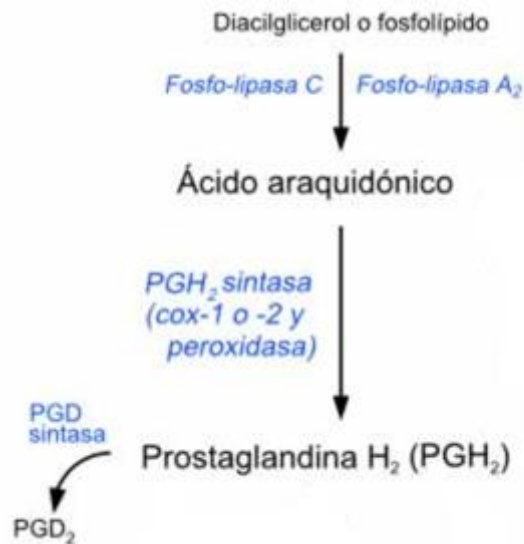


Figura 2.3: Via de biossíntese das prostaglandinas [14].

Os análogos de prostaglandina (PGA) são os fármacos mais eficazes para reduzir a pressão intraocular, uma vez que aumentam o fluxo do humor aquoso, apresentando uma taxa de efetividade de 33% [14, 17].

Estes fármacos têm a vantagem de serem aplicados apenas uma vez por dia e o seu efeito pode ter uma duração de até 48h. Possui um tempo de semivida curto e os efeitos secundários são quase inexistentes, sendo que o efeito secundário mais relatado é a mudança da cor dos olhos. Outros efeitos colaterais incluem ardência, visão embaçada e vermelhidão nos olhos [17].

Após a aplicação de PGA estas são repartidas pelas esterases na córnea dando origem à forma ativa do fármaco (latanoprost, travoprost e bimatoprost) [16].

### 2.2.2. Bloqueadores beta

Os beta bloqueadores têm como função diminuir a produção do humor aquoso, diminuindo em média 20 a 25% a pressão intraocular [16].

Estes fármacos apresentam a vantagem de serem relativamente baratos, porém existem alguns efeitos secundários observados após a sua administração, devendo por isso estar restrito o seu uso em pessoas que possuem problemas cardíacos, asma e doença pulmonar obstrutiva crônica. A sua indicação deve ser analisada cuidadosamente em crianças e em mulheres grávidas e lactentes uma vez que poderá haver passagem para o leite materno [13,16].

Uma vez que grande parte do fármaco é absorvido pela mucosa nasal, o canal lacrimal deve ser comprimido após a instilação, de modo a minimizar a reabsorção sistêmica [16].

Os fármacos desta classe, mais comumente utilizados para o tratamento do glaucoma são o timolol, o betaxolol e o levobunolol [17].

### **2.2.3. Agonistas alfa**

Os agonistas alfa são fármacos pertencentes à classe dos fármacos simpaticomiméticos. Têm como função reduzir a pressão intraocular através da redução da produção do humor aquoso.

Os principais fármacos usados são a apracloidina e a brimonidina. A brimonidina tem uma taxa de eficiência de cerca de 27%, no entanto possui uma taxa de reação alérgica bastante elevada, cerca de 25%. A apracloidina é atualmente desaconselhado devido à sua elevada taxa de reações adversas.

### **2.2.4. Inibidores da anidrase carbónica**

Os inibidores da anidrase carbónica vão diminuir a produção de fluido intraocular, provocando assim uma redução da pressão do olho. A produção de humor aquoso é reduzida devido à inibição da enzima anidrase carbónica no epitélio do corpo ciliar. O tratamento com inibidores da anidrase carbónica pode ser efetuado em conjunto com bloqueadores beta, ou em formulações isentas de conservantes.

Os fármacos usados para o tratamento do glaucoma pertencentes a este grupo são brinzolamida, acetazolamida. Estes fármacos não devem ser administrados a doentes que já demonstraram efetuar reações adversas a sulfonamidas.

### **2.2.5. Outros tratamentos**

Por vezes, devido ao estado avançado da doença, o tratamento através da aplicação ocular tópica de fármacos, não é o suficiente para impedir o progresso da doença, sendo portanto necessário recorrer a outras técnicas, como por exemplo, intervenção cirúrgica [16].

### **2.2.5.1. Trabeculectomia**

A trabeculectomia é o procedimento cirúrgico mais comumente usado e consiste em fazer um pequeno *flap* na esclera. Uma vesícula de filtração, ou reservatório, é criado sob a conjuntiva podendo agora o humor aquoso escoar e acumular-se na vesícula, onde será absorvido pelos vasos sanguíneos em torno do olho. A drenagem do humor aquoso vai reduzir a tensão no nervo ótico prevenindo assim a perda de visão [9,16, 19].

De forma a impedir falhas no tratamento, são usados anti metabolitos, sendo o mais frequentemente usado a mitomicina C (MMC). O uso destes agentes, estão relacionados com o aumento dos efeitos adversos que este método cirúrgico possui, entre eles o risco de infecção e uma anomalia na visão devido à fuga deste metabolito para os tecidos ou o tempo que permaneceu em contacto com o olho foi superior ao esperado. Alterações no método de aplicação destes agentes, como o uso de fatores de crescimento podem reduzir substancialmente as complicações a longo prazo [9].

### 3. Nanotecnologia e sistemas de administração nanotecnológicos

A nanotecnologia é uma palavra que deriva do grego nano, que significa pequeno, e da palavra tecnologia, que é um termo que envolve o conhecimento científico e técnico. Este termo envolve a aplicação de conhecimentos de ciência, engenharia, física e fabrico de matérias a um nível microscópico [20]. A nanotecnologia refere-se à criação e utilização de materiais e dispositivos à escala submicrométrica, e frequentemente da ordem dos 100 nm [21].

Estima-se que os sistemas nanotecnológicos permitirão fazer avanços significativos nas áreas de genética, administração de fármacos e de novas fórmulas medicamentosas, bem como auxiliar na sua descoberta. É utilizada por exemplo, nas áreas da biomedicina e da bioengenharia, sendo que o aumento do uso da nanotecnologia pela indústria farmacêutica tem sido muito significativo [20].

A aplicação da nanotecnologia irá, num futuro próximo, alterar a abordagem no diagnóstico, tratamento e prevenção da doença [22].

Como é possível verificar na figura 3.1, são vários os sistemas nanotecnológicos com aplicação na área biomédica.

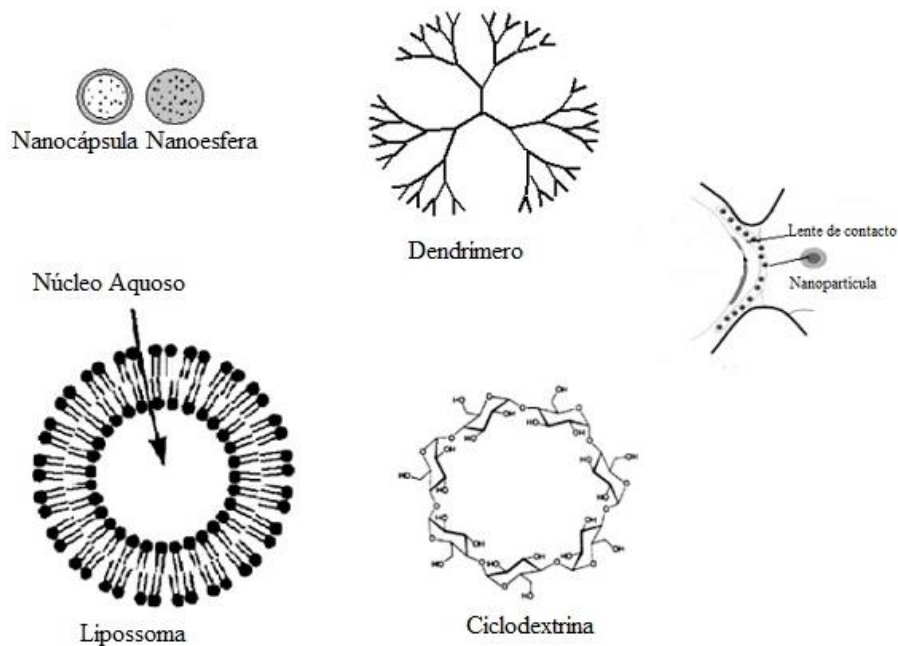


Figura 3.1: Representação esquemática das diferentes nanopartículas [20].

É através da utilização destes sistemas que a nanotecnologia é capaz de oferecer grandes vantagens no que diz respeito à administração de fármacos. Uma maior eficácia terapêutica, através da libertação controlada e progressiva do fármaco, uma diminuição da toxicidade, maior biodisponibilidade, administração mais segura, uma redução do número de aplicações necessárias para o tratamento, um maior direcionamento para o alvo terapêutico e a possibilidade de administração de substâncias hidrófilas e hidrófobas, são as inúmeras vantagens que estes sistemas tecnológicos podem oferecer relativamente aos convencionais [23, 24].

Abaixo apresenta-se uma descrição mais detalhada dos sistemas que demonstraram uma relevante aplicação no tratamento do glaucoma.

### **3.1. Nanopartículas**

As nanopartículas são frequentemente definidas como partículas de pequenas dimensões, que rondam frequentemente 1  $\mu\text{m}$  [20]. Existem dois tipos de nanopartículas, dependendo da sua estrutura: as nanosferas e nanocápsulas, constituindo assim um sistema coloidal (figura 3.2) [25]. As nanosferas são compostas por uma matriz onde os princípios ativos podem estar uniformemente dispersos ou adsorvidos à superfície, enquanto as nanocápsulas apresentam uma estrutura do tipo reservatório, estando os princípios ativos encapsulados no seu interior ou adsorvidos no exterior [25, 26]

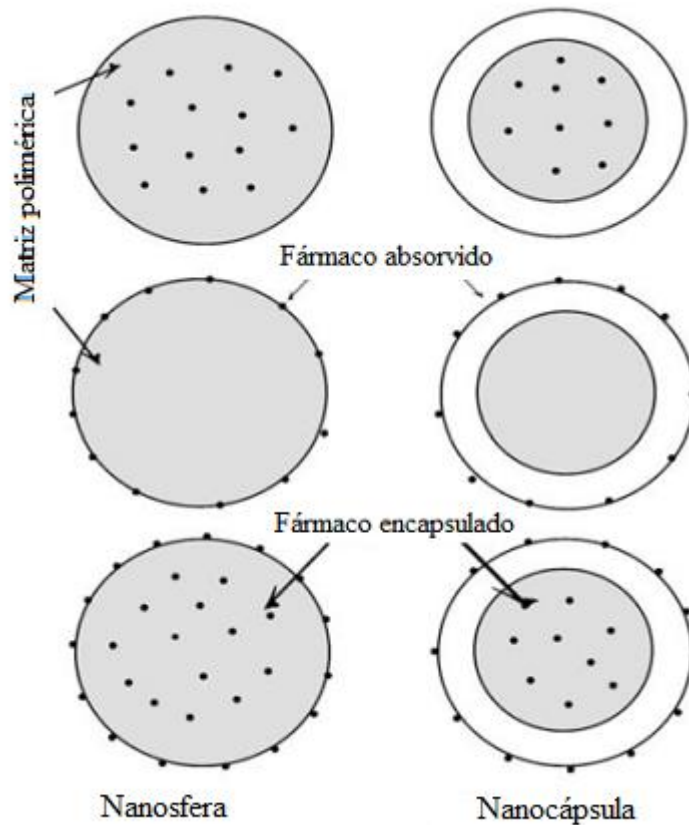


Figura 3.2: Diferentes tipos de nanopartículas [27].

As nanopartículas podem ser compostas por vários materiais, polímeros sintéticos e naturais, dependendo da sua utilização futura. Como exemplo de polímeros sintéticos podem referir-se os poliácridatos, policaprolactonas, copolímero ácido poliláctico- ácido poliglicólico. Quanto aos polímeros naturais, estes incluem a albumina, o alginato, a gelatina e o quitosano [24, 26].

Estas partículas podem ser preparadas com diferentes cargas e características físico químicas, possibilitando assim a utilização de uma enorme variedade de materiais e fármacos que podem ser transportados eficazmente até aos alvos terapêuticos, ou seja, há uma melhor absorção e a captação das nanopartículas pelas células alvo. Uma outra vantagem é o facto de este sistema promover uma maior proteção do fármaco contra ambientes que potenciam a sua degradação e deterioração, através do encapsulamento do mesmo [25, 28, 29].

Apesar de todas as vantagens referidas, a utilização de nanopartículas apresenta alguns inconvenientes relacionados com a sua utilização, formulação e inativação. Atualmente, o problema que requer maior preocupação é a floculação de partículas, em que as nanopartículas formam agregados espontâneos perdendo assim as suas propriedades

necessárias para o efeito desejado. O tempo de armazenamento e as suas condições também podem diminuir a sua eficácia e serem responsáveis pelo insucesso da sua produção em larga escala. A falta de estudos toxicológicos e ambientais que avaliem os riscos para a utilização de nanopartículas, formam também uma limitação e preocupação relativa ao uso destas partículas [25, 29, 30].

### **3.2. Lipossomas**

Lipossoma é uma palavra que deriva do grego “lipo”, que significa gordura e “soma”, que se refere a corpo.

Os fosfolípidos quando entram em contacto com a água formam uma estrutura fechada, formada por uma bicamada fosfolipídica. Este sistema vesicular é chamado de lipossoma (figura 3.1), sendo o seu interior formado por um ambiente aquoso [30, 31]. Os lipossomas são geralmente constituídos por colesterol, ácidos gordos e proteínas. Devido ao seu pequeno tamanho são considerados um ótimo sistemas de administração de fármacos [19, 30].

As suas características dependem da estrutura, método de preparação, composição, aplicação e tamanho. Dependendo destas características podem ser vários os mecanismos utilizados pelos lipossomas para penetrarem nas células. Os lipossomas podem-se fundir com a membrana celular e libertar o seu conteúdo para dentro da célula. Os fosfolípidos que constituem os lipossomas, podem ser incorporados na membrana da célula, sendo o fármaco libertado para o seu interior [33].

Apresentam diversas vantagens como possuir uma estabilidade aumentada quando são encapsulados, não serem tóxicos, serem flexíveis, completamente biodegradáveis e não imunogénicos. Reduzir a exposição dos tecidos sensíveis a fármacos tóxicos e a flexibilidade para com ligandos específicos para conseguir um direccionamento do fármaco mais seletivo. Como desvantagens apresentam o facto de serem pouco solúveis, têm um tempo de semivida curto, os fosfolípidos, por vezes, podem sofrer oxidação ou reações de hidrólise, a sua produção é dispendiosa e são pouco estáveis [34].

### 3.3. Dendrímeros

Dendrímero é uma palavra que deriva do grego *dendron* que significa árvore, estando relacionada com a sua estrutura, como é possível ver na figura 3.1 [35].

Os dendrímeros são moléculas complexas e largas com uma estrutura química bem definida. São macromoléculas quase perfeitas com uma arquitetura tridimensional constituída por: núcleo, ramificações e grupos finais [31].

Devido à sua arquitetura molecular, os dendrímeros apresentam algumas propriedades físicas e químicas melhoradas, quando comparados com polímeros lineares. As soluções constituídas por dendrímeros, apresentam também uma viscosidade relativamente baixa, quando comparado com polímeros lineares. A solubilidade dos dendrímeros é fortemente influenciada pela natureza dos grupos terminais. Dendrímeros com grupos terminais hidrofílicos são solúveis em solventes polares, enquanto os dendrímeros com grupos terminais hidrofóbicos são solúveis em solventes não polares [30].

Os dendrímeros têm algumas propriedades únicas devido à sua forma esférica e à presença de cavidades internas. A característica mais importante é a possibilidade de encapsular moléculas no interior da macromolécula [30].

Os dendrímeros são classificados por geração. Esta classificação refere-se ao número de ciclos repetidos de ramificação que foram executados durante a sua síntese. Cada geração tem aproximadamente o dobro do peso da geração anterior. Os dendrímeros de maior geração apresentam os grupos funcionais mais à superfície, que posteriormente será utilizado para particularizar o dendrímero para uma dada aplicação [31].

## 4. Aplicação de nanossistemas no tratamento do glaucoma

### 4.1.O olho como alvo para a administração de fármacos

Face às características do olho, há um grande número de doenças oculares que podem ameaçar a visão. Optar por um tratamento farmacológico, deve ter em consideração a capacidade de resposta do olho baseada na ação do fármaco. A capacidade que este órgão tem de responder à ação dos fármacos é bastante limitada, o que poderá levar a falhas no tratamento [25].

#### 4.1.1. Limitações dos tratamentos oculares

Os principais riscos no uso de nanopartículas estão relacionados sobretudo com a sua composição, a zona alvo e o tipo de administração. Estes riscos incluem principalmente inflamação, imunossupressão, agregação, acumulação em tecidos não-alvo, rutura da membrana, hemólise, geração de *stress* oxidativo e adsorção das proteínas do plasma sobre a superfície. Estas reações podem ainda levar a neblina vítrea, dano epitelial, opacidade da membrana, hemorragia, fibrose e danos da retina [36].

As principais razões para a limitação dos tratamentos oculares, estão relacionados com problemas bio farmacêuticos, uma vez que os vários constituintes do olho restringem a penetração dos fármacos na superfície ocular [25].

Como barreiras à absorção podemos considerar: a película lacrimal, a córnea, a conjuntiva, a esclera, a coróide, a retina e a barreira hemato-retiniana (BRB). Estas barreiras contribuem para que seja inferior a 5%, a percentagem de fármacos administrados por via tópica, a conseguir penetrar os tecidos intraoculares (figura 4.1) [21, 35].

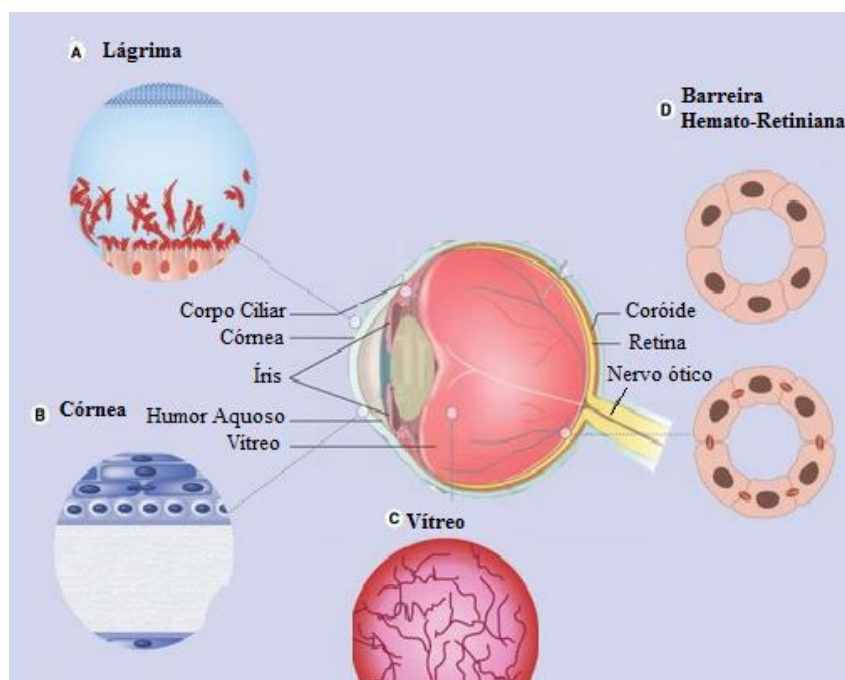


Figura 4.1: Barreiras biológicas para administração tópica de moléculas bio terapêuticas no olho (adaptado de [38]).

#### a) Película lacrimal

Para manter a saúde da córnea e conjuntiva é essencial a existência de uma boa película lacrimal. Do mesmo modo, a quantidade e a composição química adequada, da lagrima, são condições fundamentais para manter as células da superfície ocular nutridas e protegidas [39].

A película lacrimal é formada por um componente lipídico contendo esteróis, ácidos gordos e álcoois gordos e um componente aquoso que constitui a maior parte do filme lacrimal. Este é composto por 98% de água, e contém sais e proteínas [39].

Apesar de todos os benefícios que a película lacrimal oferece, ela reduz a concentração dos fármacos administrados devido à sua diluição pelo volume lacrimal (aproximadamente  $1\mu\text{L}/\text{min}$ ), acelerando assim a depuração do fármaco, e a sua ligação para as proteínas de lágrima o que pode reduzir a eficácia.

#### b) Córnea

A córnea é considerada uma barreira mecânica, que tem como função inibir o transporte de substâncias exógenas para o interior do olho.

É constituída por três camadas; epitélio, estroma e endotélio. Cada uma das camadas possui uma polaridade diferente e uma estrutura que limita a velocidade de absorção do fármaco. O epitélio corneal tem natureza lipofílica, e as junções celulares que o constituem têm como função limitar a penetração de líquidos. A estrutura altamente hidratada do estroma atua como uma barreira à penetração de moléculas de fármaco lipofílicas. As junções celulares endoteliais previnem a penetração de líquidos para o estroma [37, 40].

### **c) Conjuntiva**

A conjuntiva é uma membrana fina e transparente, que está envolvida na formação e manutenção da película lacrimal. Os vasos sanguíneos da conjuntiva não formam uma barreira, o que significa que as moléculas de fármaco podem entrar na circulação sanguínea por pinocitose ou pelo transporte convectivo através de poros celulares. Os vasos linfáticos da conjuntiva atuam como um sistema de efluxo para a eliminação eficiente do espaço conjuntival [37].

### **d) Esclera**

A esclera é constituída principalmente por fibras de colagénio e proteoglicanos incorporados numa matriz extracelular. A permeabilidade da esclera depende do raio molecular; ou seja, diminui exponencialmente com raio molecular. A hidrofobicidade dos fármacos também afetam a permeabilidade da esclera, o aumento de lipofilicidade mostra uma menor permeabilidade [37].

### **e) Coróide**

Coróide é um dos tecidos mais altamente vascularizados que fornece o sangue à retina. O fluxo de sangue por unidade de peso do tecido é maior dez vezes do que no cérebro. Alterações de espessura da coróide pode afetar a permeabilidade do fármaco [37].

#### **f) Retina**

Os fármacos usados para administração ocular têm duas vias principais, pelo qual são eliminados: o segmento anterior e o posterior. Todos os fármacos são capazes de ser eliminados através do segmento anterior, o que significa que se podem difundir através do vítreo para a câmara posterior [37].

A eliminação por via posterior ocorre por permeação através da retina. Um dos obstáculos que limitam a penetração do fármaco a partir do vítreo para a retina é a membrana limitante interna (ILM), que separa a retina do vítreo, e é composto por 10 proteínas da matriz extracelular distintos [41].

#### **g) Barreira hemato-retiniana**

A BRB permite que oxigênio e nutrientes passem livremente, e simultaneamente protegem a retina e os tecidos oculares vizinhos de organismos patogênicos e moléculas dimensões maiores [42] .

Esta barreira é composta por junções apertadas das células endoteliais dos capilares da retina e dos pigmentos do epitélio. Este pigmentos são uma monocamada de células hexagonal altamente especializadas, localizadas entre a retina sensorial e o coróide, as junções apertadas restringem de forma eficiente a penetração intercelular na retina sensorial [42].

Para além de todas as limitações referidas, os fármacos oculares também outras restrições. A dificuldade na adesão do doente ao tratamento, a irritação causada nos tecidos e os danos causados no olho que são bastantes frequentes, constituem também uma limitação de grande importância [25].

#### **4.1.2. Critérios para o desenvolvimento de formulações para aplicação ocular**

Atualmente, a indústria farmacêutica desenvolve fármacos de aplicação ocular fazendo prevalecer, sempre que possível, determinadas características de forma a reduzir os efeitos secundários relativos à sua aplicação e adesão ao tratamento. O tamanho final da fórmula a administrar é hoje em dia a maior preocupação dos investigadores nesta área.

Uma formulação com o tamanho apropriado garante ausência de irritação do olho, uma biodisponibilidade adequada, e compatibilidade com o tecido ocular. O uso de conservantes, agentes suspensores e colóides são fundamentais na produção destas fórmulas farmacêuticas [25].

A fórmula farmacêutica ideal para uso ocular será aquela que em forma de colírio, permite uma absorção eficaz, sem causar irritação ou visão turva e que apenas implique uma a duas aplicações diárias [20]. Na tabela 4.1 estão descritos os critérios que se devem ter em conta para a produção de medicamentos oculares.

Tabela 4.1: Critérios para a seleção dos parâmetros de formulação ideais ao desenvolvimento de um sistema de administração de fórmulas farmacêuticas oftálmicas [20].

<b>Fator</b>	<b>Preferência</b>
<b>Fármaco</b>	Os compostos lipofílicos não-ionizáveis são os ideais nas formulações oculares.
<b>Tipo de vetor</b>	Depende da molécula encapsulada. O ideal será um vetor que permita uma boa correlação entre a quantidade de fármaco necessária e o volume a ser instilado.
<b>Tamanho</b>	Mais reduzido possível, para facilitar a absorção e passagem pela córnea.
<b>Pressão osmótica</b>	Isotônica com os fluidos fisiológicos para evitar irritação e lacrimação
<b>pH</b>	Perto de pH fisiológico para evitar irritação e lacrimejamento. Se o tamponamento é necessário, a concentração de tampão deve ser a mais baixa possível (<0,1 M)

A maioria dos conservantes usados para estabilizar ou manter estéreis os colírios, atuam como detergentes, o que pode ter influência na permeabilidade da córnea, causando separação epitelial. Os conservantes mais populares são os tensoativos catiónicos, sendo que o mais utilizado é o cloreto de benzalcônio. Os danos oculares que ocorrem devem-se muito provavelmente à emulsificação dos lípidos da membrana celular, ou seja, os conservantes danificam o epitélio da córnea, por outro lado vão aumentar a sua permeabilidade. No entanto, a absorção sistêmica do fármaco através da conjuntiva ou as camadas mucosas nasais também aumenta [39].

### 4.1.3. Vias de administração ocular

São várias as vias de administração de fármacos a nível ocular, sendo as principais a tópica, a intravítrea e a periocular (figura 4.2).

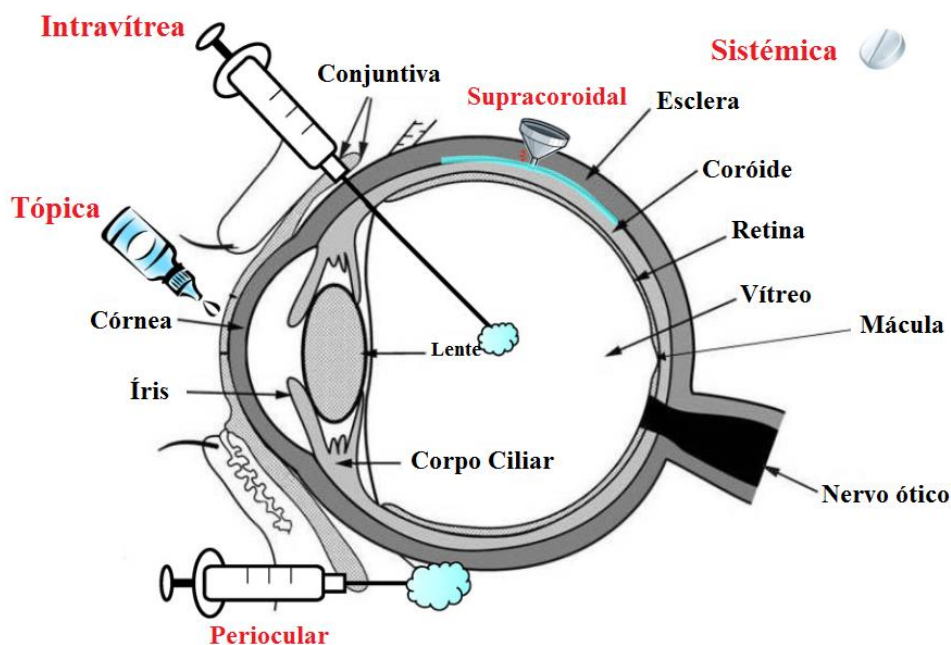


Figura 4.2: Diferentes vias de administração de medicamentos no globo ocular [43].

Existem medicamentos que quando administrados por via oral apresentam uma reduzida biodisponibilidade (entre 1 a 2%) devido à BRB, sendo portanto preferível a administração local de fármacos [41].

#### a) Tópica ocular

A administração tópica é relativamente fácil, sendo o método menos falível e mais económico para a administração ocular [42].

No entanto, a absorção é considerada ineficaz, se menos de 5% da dose aplicada topicamente for absorvida pelo olho. Esta baixa penetração ocular é atribuída a uma variedade de razões: o volume limitado de administração (30 mL); depuração rápida da superfície ocular; o metabolismo da substância ativa por enzimas lacrimais; as barreiras membrana anterior (córnea, conjuntiva); o escoamento do humor aquoso; a natureza

celular do vítreo. Todos estes fatores acumulados podem levar a um impacto negativo a nível da farmacocinética e libertação de medicamentos de aplicação tópica [41].

### **b) Intravítrea**

O vítreo é uma estrutura gelatinosa, livre de células que é capaz de reter moléculas e também cede-las às estruturas vizinhas [25].

A injeção no vítreo é a forma mais rápida e direta de administração de fármacos oftálmicos. Este método não é influenciado pelas barreiras existentes no olho, sendo portanto compatível com moléculas de fármaco de várias dimensões. A administração intravítrea também não sofre influência pelas propriedades químicas do fármaco ou da formulação [41, 43].

Administração intravítrea envolve a introdução direta da solução/suspensão de fármaco no humor vítreo, usando uma agulha 30-G. Em contraste com as vias tópicas e sistémicas, este tipo de administração proporciona altas concentrações de fármaco disponíveis [41].

Como desvantagens desta via de administração são referidas complicações tais como; infeção, hemorragia ou descolamento de retina. Estas são bastantes frequentes podendo ser resultado da lesão constante dos tecidos do olho. A questão a ponderar na opção por esta via relaciona-se com a elevada carga de cuidados, que incluem inúmeras visitas médicas, dor no procedimento, e elevados custos do medicamento. Este aumento da carga de cuidados pode ser significativa e resultar numa interrupção completa do tratamento [42].

### **c) Periocular**

A via periocular refere-se à administração de fármaco na região que circunda o olho. Embora seja certo que a biodisponibilidade da retina, a partir da via periocular é menor do que a via intravítrea, medicamentos que contenham uma dosagem mais elevada, quando administrados por via periocular podem atingir níveis terapêuticos na retina [38, 43].

Esta via, embora não tão eficiente como a intravítrea, oferece como vantagem uma menor capacidade de invasão e uma melhor biodisponibilidade do fármaco, em comparação com a via tópica [41].

Na tabela 4.2 encontram-se discriminadas as vantagens e desvantagens das diferentes vias de administração.

Tabela 4.2: Vantagens e Desvantagens das diferentes vias de administração oftálmica (adaptado de [41]).

	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Tópica ocular</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Melhor adesão do doente</li> <li>• Reduzidos efeitos colaterais sistémicos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Baixa biodisponibilidade</li> <li>• Necessário doses elevadas</li> <li>• Tempo de retenção curto</li> <li>• Visão turva</li> <li>• Perdas de fármaco precorneal</li> <li>• Drenagem através do canal nasolacrimal</li> <li>• Irritação</li> </ul>
<b>Intravítrea</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Administração local e direta</li> <li>• Concentração terapêutica alta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Repetição da aplicação</li> <li>• Eliminação rápida</li> <li>• Efeitos colaterais graves podem ocorrer em injeções repetidas, especialmente descolamento da retina, catarata, e hemorragia vítrea</li> </ul>
<b>Periocular</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Menos doloroso</li> <li>• Mais eficiente</li> <li>• Elevados níveis terapêuticos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eliminação rápida</li> <li>• Efeitos colaterais sistémicos</li> <li>• Hemorragia</li> </ul>

Recentemente surgiu uma nova forma de administração de fármacos oculares, a via supracoroidal. Este método tem potencial para minimizar os efeitos adversos sistémicos e é indicado principalmente para doenças da retina e do nervo ótico, tal como o glaucoma [36].

O uso de sistemas de administração de fármacos baseados em nanotecnologia, como nanosuspensões, nanopartículas e lipossomas, conduziu à solução de diversos problemas relacionados com a solubilidade dos fármacos. A encapsulação de fármacos em nanosferas, lipossomas e dendrímeros, podem também proporcionar proteção para o fármaco e assim prolongar a exposição do fármaco por libertação controlada [20].

## **4.2. Nanopartículas**

### **4.2.1. Nano partículas para administração ocular**

O uso de nanopartículas tem vindo a demonstrar resultados promissores na administração de fármacos oftálmicos durante a última década.

Esta tecnologia proporciona oportunidades interessantes para administração tópica, principalmente devido à sua capacidade de proteger a molécula de fármaco que se encontra encapsulado, facilitando o seu transporte para os diferentes compartimentos do olho. Além disso, estas estruturas podem oferecer a possibilidade de controlar a sua libertação sendo portanto, veículos atrativos para o tratamento de algumas doenças oculares [45].

A utilidade das nanopartículas como um sistema de administração de fármacos oculares depende da otimização das propriedades lipo e hidrofílicas do sistema fármaco-polímero, da otimização das taxas de biodegradação na zona pré-corneal e do aumento da eficiência da retenção na zona pré-corneal [46].

É altamente desejável a formulação de partículas com materiais bio adesivos, a fim de aumentar o tempo de retenção das partículas no olho. Sem esta propriedade, as nanopartículas podem ser eliminadas tao rápido quanto as soluções aquosas [46].

As vantagens da administração de um fármaco em forma de nanopartículas são: a redução da quantidade da dose necessária, a libertação do fármaco durante um período longo de tempo, concentrações de fármaco mais elevadas no tecido afetado, maior tempo de permanência das nanopartículas na superfície da córnea e redução toxicidade sistémica do fármaco [46].

Nanopartículas feitas de polímeros não biodegradáveis, não são digeridas pelas enzimas nem degradadas *in vivo*. O risco de toxicidade crónica devido à sobrecarga intracelular de polímeros não degradáveis, é uma limitação à sua administração sistémica para os seres humanos.

### **4.2.2. Nanopartículas aplicadas ao tratamento do glaucoma**

O desenvolvimento de nanopartículas com aplicação no tratamento do glaucoma, tem vindo a ser cada vez mais estudado. Alguns destes estudos já revelaram resultados

bastante promissores no uso deste tipo de nanosistemas, no entanto ainda foram poucas as nanopartículas que foram capazes de oferecer uma mais-valia no tratamento. As principais nanopartículas usadas para o encapsulamento de fármacos anti glaucomatosos são as nanopartículas líquida-cristalinas e as nanopartículas de quitosano. Em seguida serão descritos os estudos já efetuados que revelaram resultados bastante promissores envolvendo estas partículas para o tratamento do glaucoma.

#### a) **Nanopartículas líquido-cristalinas (LCNP)**

As LCNP representam uma classe interessante de nanopartículas com um potencial promissor no tratamento do glaucoma. A sua estrutura com base numa rede cristalina oferece propriedades, tal como a viscosidade e boa biocompatibilidade, que outras nanopartículas ainda não são capazes. Têm vindo a ser realizados vários estudos, no sentido de estudar o potencial de alguns fármacos quando encapsulados em LCNP. Em seguida, serão demonstrados os fármacos que já apresentaram uma melhor eficácia de tratamento quando preparados com LCNP [47, 48].

A **brinzolamida (BLZ)** é um inibidor da anidrase carbónica que deriva de uma família de sulfonamidas heterocíclicas, é usada para baixar e controlar a elevada pressão intraocular característica dos doentes com glaucoma. Devido à sua baixa solubilidade e aos diversos efeitos adversos que proporciona, como dor, visão turva e desconforto ocular, a sua aplicação é bastante limitada [49]. No sentido de melhorar a biodisponibilidade e reduzir os efeitos adversos, foi estudado a administração ocular de brinzolamida em LCNP.

As LCNP foram preparadas por emulsificação modificada e a solução de BLZ foi preparada por dissolução de 100 mg de BLZ em 10 mL de lágrima artificial. O tamanho da partícula é um parâmetro vital para uma eficiente absorção e transporte através das barreiras oculares. Neste estudo, o tamanho médio das partículas ronda os 180nm tendo este valor sido calculado com base em seis lotes de amostras. A osmolaridade também é um aspeto importante e que deve ser tido em conta na preparação de partículas, tendo os valores neste estudo variado entre os 280-285 mOsm/L. O pH das formulações preparadas foram de 6,4, sendo este valor compatível com o pH ocular. Devido à lipofilia das LCNP a eficiência de encapsulação foi superior a 94%. Os estudos *in vitro* revelaram que a libertação do fármaco após 1h era de 55% para as LCNP e de 80% para a formulação

comercial (Azopt®) e passadas 2h era de 94% e 72% para o Azopt® e para a LCNP respectivamente. Estes resultados indicam que LCNP exibem uma libertação mais controlada e prolongada de fármaco que Azopt®. Estudos *ex vivo* efetuados em coelhos, demonstraram que o coeficiente de permeabilidade de LCNP BLZ era 3,47 vezes superior ao do Azopt®. A preservação das características da córnea foi também tido em conta no decorrer deste estudo, a sua hidratação, foi avaliada quando se usou LCNP BLZ e Azopt®. Verificou-se que o nível de hidratação da córnea quando se usou LCNP BLZ e Azopt® foi de 79% e de 83% respetivamente, estando portanto a integridade da córnea salvaguardada. Relativamente aos resultados da eficácia terapêutica, foram comparadas várias formulações contendo brinzolamida, LCNP BZL, solução de BLZ e Azopt®. Foi verificado que a formulação que apresentava uma maior taxa de redução de IOP em função do tempo era a LCNP BLZ, seguindo-se o Azopt® e por último a solução de BLZ (figura 4.3) [50].

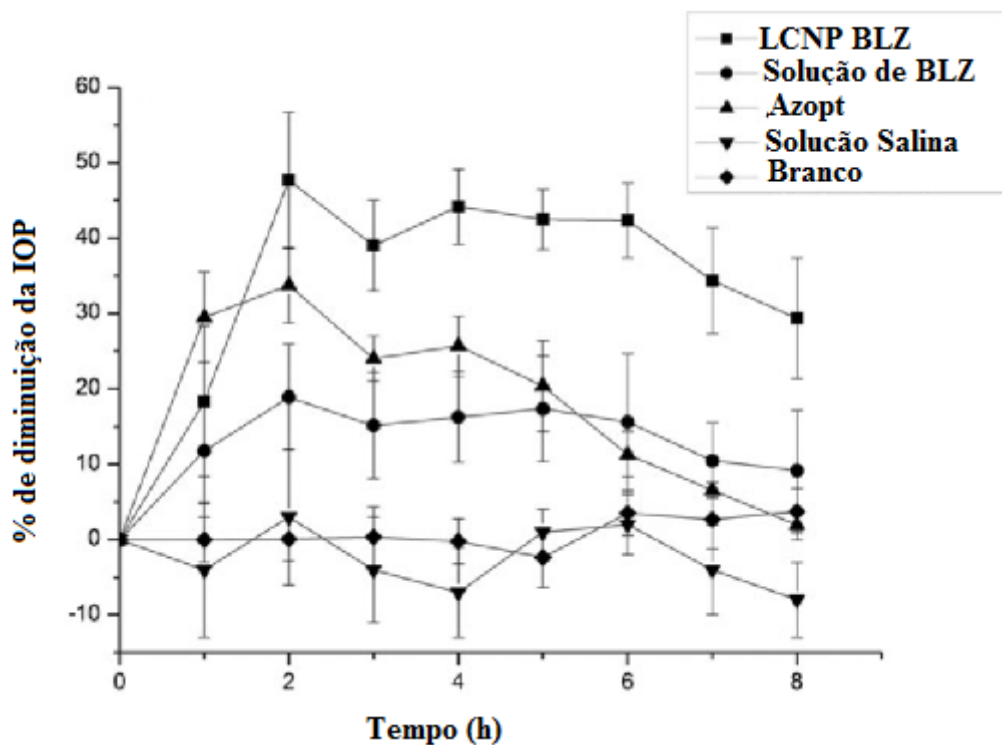


Figura 4.3: Percentagem de diminuição da IOP após a administração de diferentes formulações contendo BLZ, tendo como controlo uma solução salina e um branco (adaptado de [50]).

Em conclusão, a libertação ocular de brinzolamida a partir de nanopartículas líquido-cristalinas é um sistema promissor de tratamento do glaucoma. Doses de fármaco mais baixas, uma melhor biodisponibilidade e uma melhor aceitação por parte do doente,

são alguns dos critérios que tornam este sistema mais vantajoso do que o Azopt® atualmente usado.

Em estudos efetuados por Li, Jing et al. foram também desenvolvidas LCNP preparadas com **pilocarpina (PN)**, no sentido de melhorar a biodisponibilidade deste fármaco. Estas partículas apresentavam um diâmetro de  $202\pm 19\text{nm}$ , um valor de pH de cerca de 6,18 e uma osmolaridade a rondar os 290 mOsm/L, estando portanto, estes valores todos dentro do intervalo aceitável. Estudos *ex vivo*, realizados em coelhos, revelaram que LCNP aumentavam consideravelmente a penetração de pilocarpina através da córnea. Comparando com a formulação de pilocarpina atualmente comercializada, este sistema nanoparticular, apresenta um aumento do coeficiente de permeabilidade de cerca 2,05. Este aumento da permeabilidade pode estar relacionado com as características lipofílicas que LCNP-PN conferem. Foram também estudados os níveis de hidratação da córnea de forma a verificar se ocorreram danos nos tecidos corneais. O resultado indicou que, ao longo de toda a experiência, os níveis de hidratação rondaram os 80% demonstrando assim que a integridade da córnea é mantida. Estudos *in vivo*, mostraram a percentagem de diminuição da IOP usando a formulação comercial, a sistema de nanopartículas e um controlo. Verificou-se que cinco horas após a instilação de LCNP-PN, ocorreu uma redução de 59% da IOP enquanto a formulação comercial obteve uma redução da IOP máxima passado duas horas da instilação, sendo esta de 42% (figura 4.4) [51].

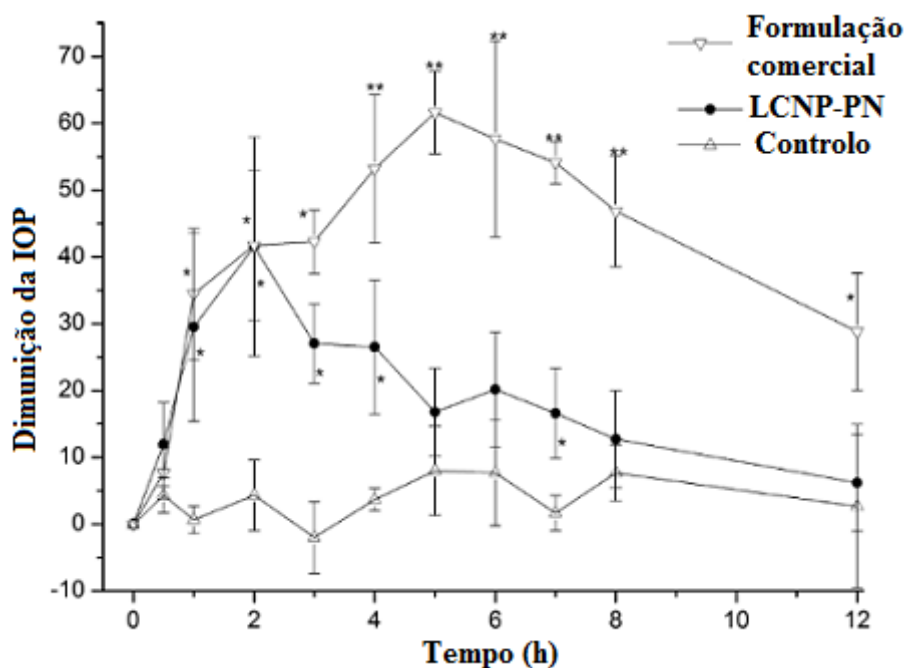


Figura 4.4: Percentagem de diminuição da IOP após administração da formulação comercial e LCNP-PN (adaptado de [51]).

Em suma, a formulação LCNP-PN mostrou ser bastante promissora no que diz respeito ao tratamento do glaucoma. Esta formulação exibiu baixas propriedades irritantes para o olho, uma dispersão uniforme e um aumento da penetração através da córnea, que se reflete numa redução da IOP mais eficaz, comparativamente com a formulação já comercializada.

## b) Quitosano

O quitosano é um polímero de origem natural constituído por unidades de *N*-acetilD-glucosamina e D-glucosamina e pode ser obtido a partir da quitina, tida como o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza e presente no exosqueleto de insetos e crustáceos (figura 4.5). Este polímero tem sido bastante estudado para a formulação de sistemas de administração ocular, pois apresenta diversas vantagens que permitem um tratamento mais eficaz. As soluções de quitosano apresentam propriedades muco adesivas, pseudoplásticas e viscoelásticas, ideais para a administração de fármacos oculares. A pseudoplasticidade é particularmente importante neste tipo de formulações, uma vez que, facilita a retenção do fármaco, já que a distribuição da formulação pelo globo ocular é facilitada pelo piscar das pálpebras [45] [52].

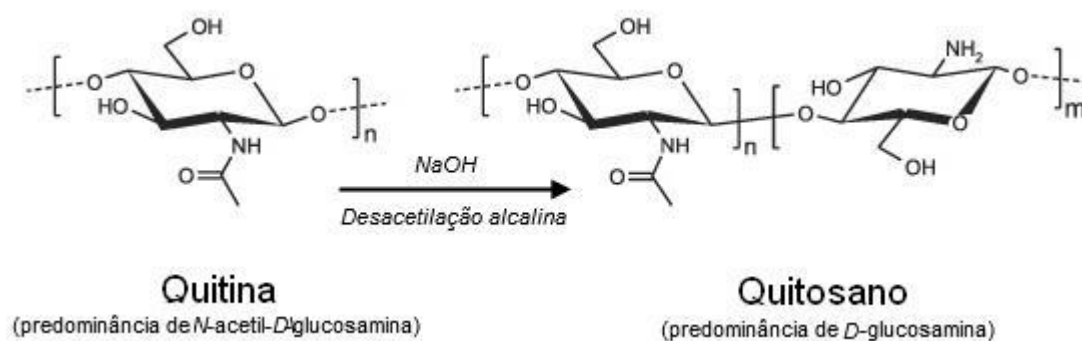


Figura 4.5: Representação das estruturas químicas da quitina e quitosano [45].

Num estudo realizado por Shinde, Ujwala et al., foram sintetizadas 6-O-carboximetil derivada de quitosano (OCM-CS) e partículas de quitosano (CS) sendo posteriormente encapsuladas com **dorzolamida (DRZ)**. As nanopartículas CS e OCM-CS foram preparadas pelo método gelificação iônica. CS apresenta um tamanho que ronda os 250 nm e o do COM-CS ronda os 87,1 nm, o potencial zeta é de  $33 \pm 0,7$  mV, e  $31 \pm 0,9$  mV, para CS e OCM-CS respectivamente. O pH foi ajustado com acetato de sódio para um valor de 5,5. Relativamente ao aumento da adesividade verificou-se através de estudos *in vitro* que o tamanho da partícula afeta a muco adesividade da mesma. A OCM-CS preparada com DZR apresentou uma eficiência de  $38 \pm 1\%$  enquanto as nanopartículas de CS preparadas com DZR apresentaram uma eficiência de  $28 \pm 0,5\%$ . Estudos *in vivo* efetuados em coelhos albinos, demonstraram que a formulação existente no mercado, deixa de exercer atividade terapêutica quatro horas após a instilação, enquanto as nanopartículas CS têm efeito até seis horas após a administração e as nanopartículas COM-CS têm efeito até oito horas após a aplicação tópica ocular (figura 4.6) [53].

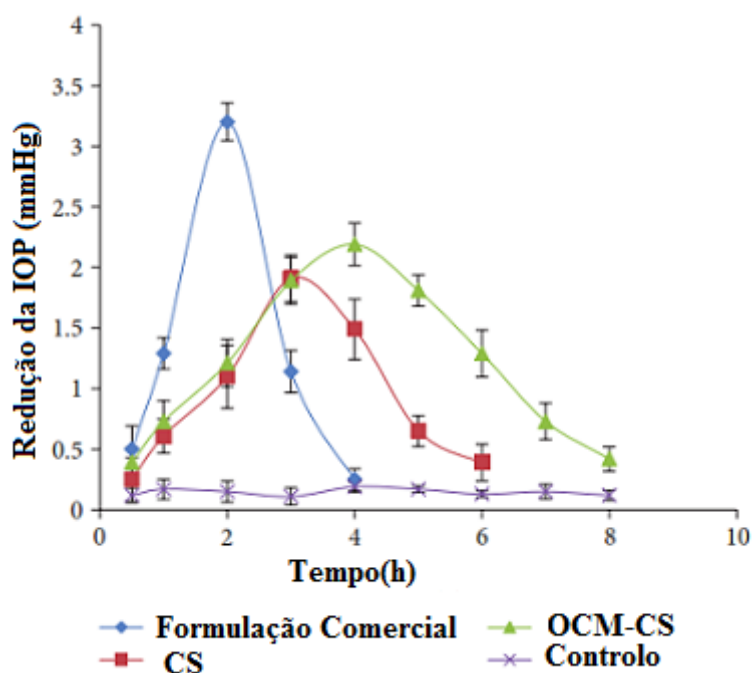


Figura 4.6: Comparação da eficácia terapêutica de DZR preparada com nanopartículas de OCM-CS e CS, a formulação existente no mercado e um grupo controle (adaptado de [53]).

Conclui-se portanto que as formulações mais vantajosas são as nanopartículas CS e OCM-CS, sendo que devido às características muco adesivas, as nanopartículas OCM-CS mostram-se ser as mais eficazes.

Um outro fármaco que tem apresentado vantagens quando preparado com nanopartículas de CS é a **brimonidina**. Neste caso, as nanopartículas de CS são preparadas por gelificação ionotrópica. Estas partículas possuem um pH que ronda o 7,4 e um tamanho que ronda os 270-370nm. Estudos efetuados *in vivo*, em ratinhos, demonstraram que as nanopartículas de CS tinham uma maior eficácia na redução de IOP, quando comparado com os colírios convencionais (figura 4.7). A interação das partículas de CS com as mucinas fornece uma muco adesividade eficaz e prolonga o tempo de libertação do fármaco da formulação nanoparticulada, promovendo assim uma redução da IOP mais eficiente [54].

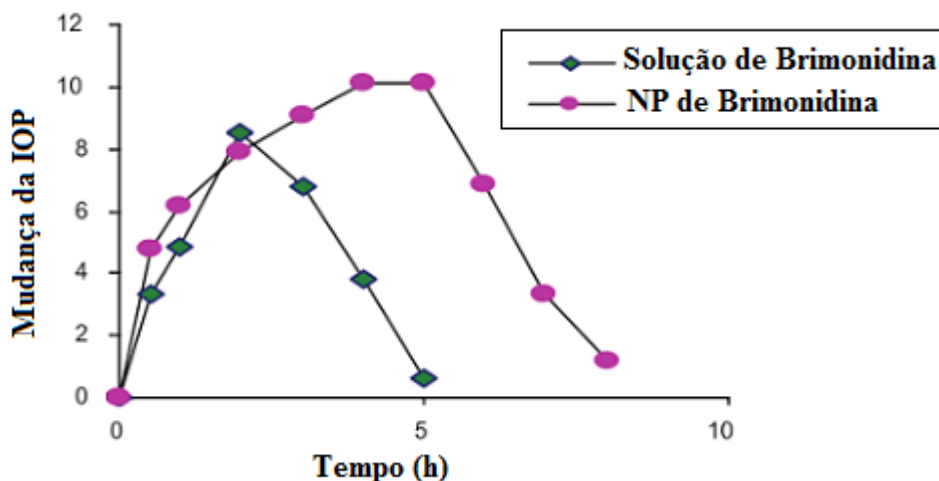


Figura 4.7: Representação gráfica da variação de IOP em função do tempo (adaptado de [54]).

Os resultados deste estudo sugerem portanto, que a brimonidina preparada com nanopartículas de CS ajuda da redução da frequência de administração do fármaco, através da libertação prolongada e controlada de fármaco usado no tratamento do glaucoma.

### 4.3.Lipossomas

#### 4.3.1. Lipossomas como veículo para administração ocular

Os lipossomas mostraram ser nano-transportadores biocompatíveis e biodegradáveis, ainda que essas propriedades dependem da sua composição. Estas características melhoraram francamente a permeação das moléculas de fármaco absorvidas através da ligação à superfície da córnea e também melhoraram o tempo de permanência do fármaco[55, 56].

Estudos realizados por Felt et al. sugerem que os lipossomas melhoram a penetração corneal de fármacos ao serem adsorvidos sobre a superfície da córnea, devido à transferência direta de fármacos a partir dos lipossomas para as membranas de células epiteliais e à sua natureza versátil. Estes fatores têm sido amplamente estudados para o tratamento de doenças oculares [20].

Os lipossomas carregados positivamente parecem ser preferencialmente absorvidos na superfície da córnea, em comparação com lipossomas neutros ou

carregados negativamente. Isto sugere, que a interação inicial entre a superfície da córnea e os lipossomas é de natureza eletrostática [57].

Apesar de os lipossomas constituírem um sistema útil na administração de fármacos por via ocular, eles apresentam geralmente um tempo de semivida curto, têm uma capacidade limitada de fármacos, para a sua preparação são usadas condições agressivas e têm problemas de esterilização [19, 40].

#### 4.3.2. Aplicação de lipossomas no tratamento do glaucoma

Tal como as nanopartículas, também os lipossomas podem ser revestidos com polímeros que aumentam a sua eficiência. No entanto não se tem estudado muito o seu potencial para o tratamento do glaucoma.

Derivados da fosfatidilcolinas (PC), um exemplo mais comum de materiais usados na produção de lipossomas aplicados no tratamento do glaucoma. A DPPC (figura 4.8), é um fosfolípido constituído por dois ácidos palmíticos.

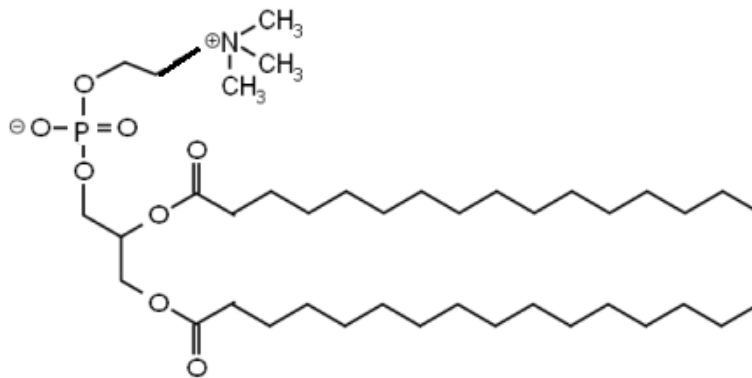


Figura 4.8: Estrutura química da dipalmitoilfosfatidilcolina [58].

O encapsulamento de **latanoprost** em lipossomas tem-se revelado resultados bastante promissores no tratamento do glaucoma. Num estudo realizado por Natarajan, J. et al, foram preparados lipossomas LUV através da técnica de hidratação e apresentaram um tamanho que rondam os 0,09 e os 0,12  $\mu\text{m}$ , um índice de polidispersão entre os 0,09 e os 0,1, um potencial zeta entre os -5 e os 7 mV e uma eficiência de produção que variou entre os 80 e 85 %. Para determinar os efeitos desta preparação, 23 coelhos foram divididos em três grupos todos eles com uma IOP de  $14,0 \pm 0,3$  mmHg. Num grupo foi

administrada uma injeção subconjuntival da formulação lipossomal carregada com latanoprost (grupo A), noutro grupo foi administrado colírio de latanoprost (grupo B) e o último grupo era o controlo. Os resultados obtidos revelaram uma redução substancial da IOP no grupo A quando comparado com o grupo B. Ao fim de 30 dias de tratamento a IOP teve uma diminuição de  $3,0 \pm 0,2$  mmHg no grupo A enquanto o grupo B teve uma redução de  $1,6 \pm 0,18$  mmHg. Ao fim de 80 dias a redução da IOP foi de  $3,5 \pm 0,6$  mmHg e  $2,3 \pm 0,6$  mmHg para o grupo A e B respetivamente. É de referir que inflamação local e efeitos tóxicos não foram observados ao longo de toda a experiência [59].

Após análise dos resultados pode-se então concluir que a administração de latanoprost encapsulado em lipossomas apresenta vantagens significativas a nível de eficiência do tratamento do glaucoma, quando comparado com a fórmula convencional.

Lipossomas MLV carregados negativamente foram preparados com DPPC e encapsulado com **pilocarpina**. Foram assim comparados a eficácia de redução da IOP em lipossomas carregados negativamente e neutros. Estudo *in vivo* foram efetuados em nove coelhos, que se dividiram em grupos e três. Cada grupo foi designado para receber uma das três preparações: neutra, os lipossomas carregados negativamente e a solução livre de fármaco. Após a investigação conclui-se que os lipossomas carregados negativamente apresentam uma maior eficácia no que diz respeito ao tratamento do glaucoma. É de referir ainda que os lipossomas carregados positivamente não foram testados, uma vez que apresentaram efeitos bastante tóxicos e provocavam irritação da mucosa ocular [60].

O **timolol** é um bloqueador beta e tem como efeito uma redução da pressão intraocular promovida pela redução da produção de humor aquoso [61]. Estudos efetuados com este fármaco foram desenvolvidos para determinar a eficácia do seu encapsulamento com lipossomas. Para tal, foram preparados lipossomas MLV, constituídos por DPPC e colesterol, no qual foi encapsulado timolol. A eficácia de encapsulamento variou de acordo com a concentração de colesterol e a carga do lipossomas, sendo que a formulação que apresentou melhores resultados foi o lipossoma carregado negativamente e que possuía uma concentração de colesterol superior, apresentando uma taxa de eficiência superior a 97% e um pH que ronda os 7,4. Estudos *in vivo*, efetuados em coelhos revelaram que a diminuição da IOP era mais significativa na formulação carregada positivamente e com maior concentração de colesterol. Estes

lipossomas mostram ser um caminho promissor no que diz respeito aos sistemas de administração de fármacos oculares, tal facto deve-se à capacidade que têm de manter o fármaco num local específico, evitando assim a sua dispersão e assim conseguem mantê-lo por mais tempo no globo ocular, conseguindo assim atuar por um período de tempo mais longo do que as usuais formulações, apresentam também como vantagem uma melhor adesão por parte do doente, uma vez que são necessárias menos aplicações durante o tratamento. O aumento da concentração de colesterol nas formulações preparadas serve sobretudo para diminuir a permeabilidade que se manifesta por uma baixa taxa de libertação de fármaco e aumento da retenção melhorando assim a eficácia dos lipossomas [62].

## **4.4. Dendrímeros**

### **4.4.1. Dendrímeros e a aplicação ocular**

Os dendrímeros têm sido investigados como sistema de administração de fármacos oftálmicos, desde que foram relatadas uma série de vantagens como um sistema transportador. Uma melhor solubilidade em água, um aumento permeabilidade, da biodisponibilidade e da biocompatibilidade são algumas das propriedades que fizeram dos dendrímeros uma ótima forma de administração de fármacos [63].

Estas partículas têm múltiplas extremidades, o que pode aumentar a bio adesão, mas também têm propriedades muito diferentes em comparação com polímeros, em particular, uma viscosidade intrínseca muito baixa [64].

O núcleo hidrófobo interior do dendrímero pode encapsular compostos hidrofóbicos e aumentar a sua solubilidade na água. Para além disso, as cargas catiónicas à superfície do dendrímero conferem muco adesividade, melhorando assim a eficiência dos fármacos oculares [65].

Os dendrímeros são especialmente usados para a síntese de hidrogéis, pois aumentam de volume numa solução aquosa e são mais semelhantes a tecido vivo do que qualquer outro composto sintético. Ao adicionar polietileno glicol ou grupos PEG ao dendrímeros, estes hidrogéis têm diversas aplicações, nomeadamente no tratamento de doenças oftálmicas [66].

#### 4.4.2. Dendrímeros usados no tratamento do glaucoma

Estes sistemas nanotecnológicos ainda não foram muito estudados pela comunidade científica, no entanto os estudos já realizados com timolol e brimonidina, mostraram que os dendrímeros possuem um potencial promissor para o tratamento mais eficaz do glaucoma. Os dendrímeros foram desenvolvidos para evitar os problemas de viscosidade e bio adesão e a sua arquitetura única é também capaz de solubilizar fármacos que se demonstram pouco solúveis em meio aquoso [63, 67].

C.A. Holden et al. desenvolveram um hidrogel feito com PAMAM e PEG, através de exposição a raios UV. A muco adesividade desta formulação foi comprovada através da medição do potencial zeta que apresentou um valor de  $-4 \pm 2$  mV. Partículas de **brimonidina** e **timolol** foram adicionadas ao hidrogel de forma a avaliar o seu potencial terapêutico. Estudos *in vitro* demonstraram que a libertação do fármaco de brimonidina foi sustentada perto de 72 horas enquanto a de timolol cerca de 56 horas, contrastando com os convencionais colírios que tem um período de libertação de fármaco de cerca de 1,5 horas. A libertação prolongada destes fármacos deve-se essencialmente à retenção das partículas pelo PEG bem como ao encapsulamento no interior do dendrímero. Estudos *ex vivo* foram realizados em bovinos para determinar o transporte trans-corneal e a absorção pelo olho, analisando os resultados verifica-se que a formulação contendo timolol é a mais vantajosa uma vez que apresenta um maior transporte através da córnea e uma melhor absorção pelos tecidos, tornando-se assim mais eficiente (figura 4.10) [65].

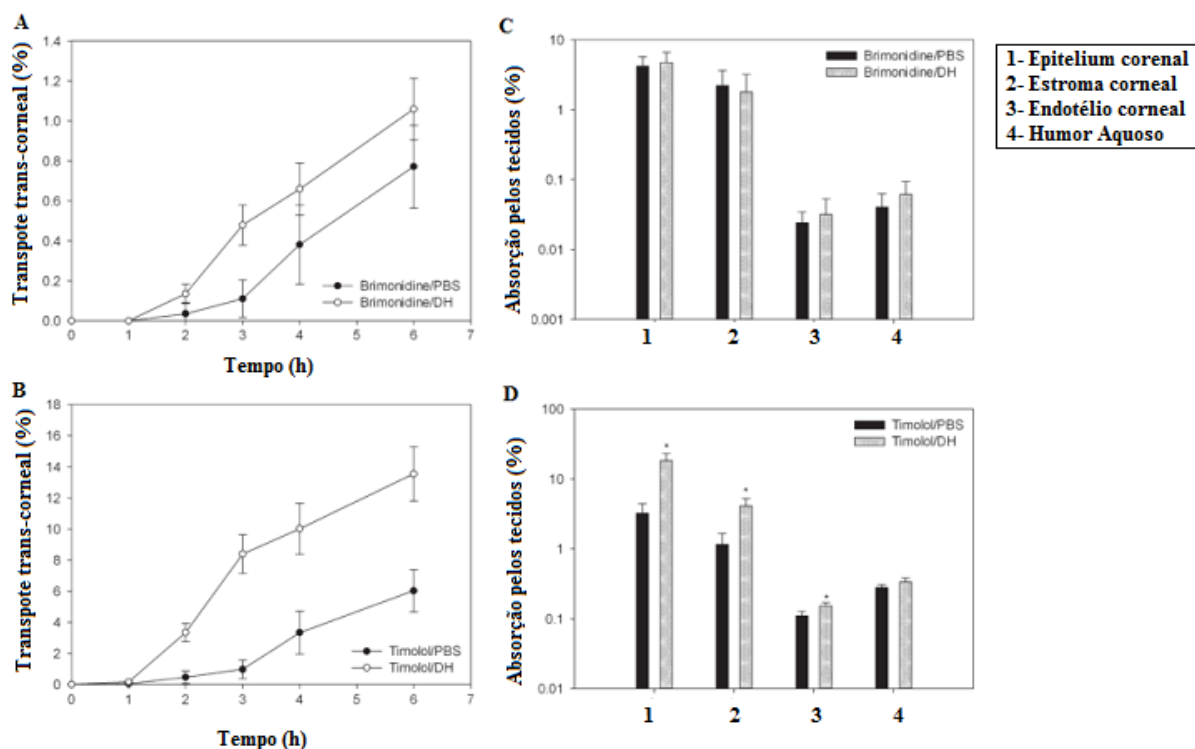


Figura 4.9: Ilustração dos resultados obtidos através de estudos *ex vivo* relativos ao transporte trans-corneal do fármaco bem como a sua absorção pelos tecidos oculares (adaptado de [65]).

Alguns estudos envolvendo brimonidina e timolol têm sido realizados e revelado resultados satisfatórios. O aumento da biodisponibilidade do fármaco, a redução eficaz da pressão intraocular por um período de tempo mais alargado e a redução da necessidade da frequência de administração levam a uma melhor adesão por parte do doente a longo prazo tornando assim mais eficaz o tratamento [68, 69].

É possível assim concluir, que as formulações de dendrímeros são capazes de melhorar a administração de fármacos utilizados no tratamento do glaucoma e representam um método de tratamento bastante promissor, no entanto mais estudos terão de ser feitos no futuro [65,67-69].

## **5. Perspetivas futuras de tratamento do glaucoma**

Década após década, as investigações acerca do glaucoma têm vindo a alterar a opinião dos investigadores, tendo passado de ser considerado uma neuropatia ótica para passar a ser considerada uma doença que afeta todo o sistema visual [65, 66].

Estes avanços na ciência permitiram uma aquisição de conhecimentos nomeadamente no que diz respeito ao percurso de escoamento trabecular, ou seja, uma melhor compreensão de mecanismos como: fagocitose, reorganização do citoesqueleto, adesão celular e deposição de matriz. Deste modo pode-se considerar que foram abertos novos horizontes para o desenvolvimento de novas classes de agentes capazes de reduzir a IOP. As estratégias futuras para o tratamento do glaucoma, devem ter em consideração estes mecanismos, agora mais esclarecidos [72].

Também o desenvolvimento de técnicas cirúrgicas usadas no tratamento do glaucoma têm ganho um especial interesse e popularidade por parte dos doentes e dos oftalmologistas. Estes procedimentos, menos invasivos que os tradicionais, oferecem uma segurança e facilidade que tem despertado particular interesse por uma grande comunidade de investigadores [73].

### **5.1. Novos agentes**

O desenvolvimento de novos agentes capazes de atuar na rede trabecular está previsto como o tratamento hipotensivo do futuro para os doentes com glaucoma. Estão também em desenvolvimento formulações contendo fármacos que consigam controlar a produção de humor aquoso e aumentar o fluxo uveoscleral (figura 5.1). No entanto, apenas alguns destes agentes têm demonstrado um potencial terapêutico quando formulados em sistemas nanoparticulados, sendo os que demonstraram um potencial mais relevante nos últimos anos a Rho-quinase, os fatores de crescimento (TGF- $\beta$ ), os recetores de adenosina [74, 75].

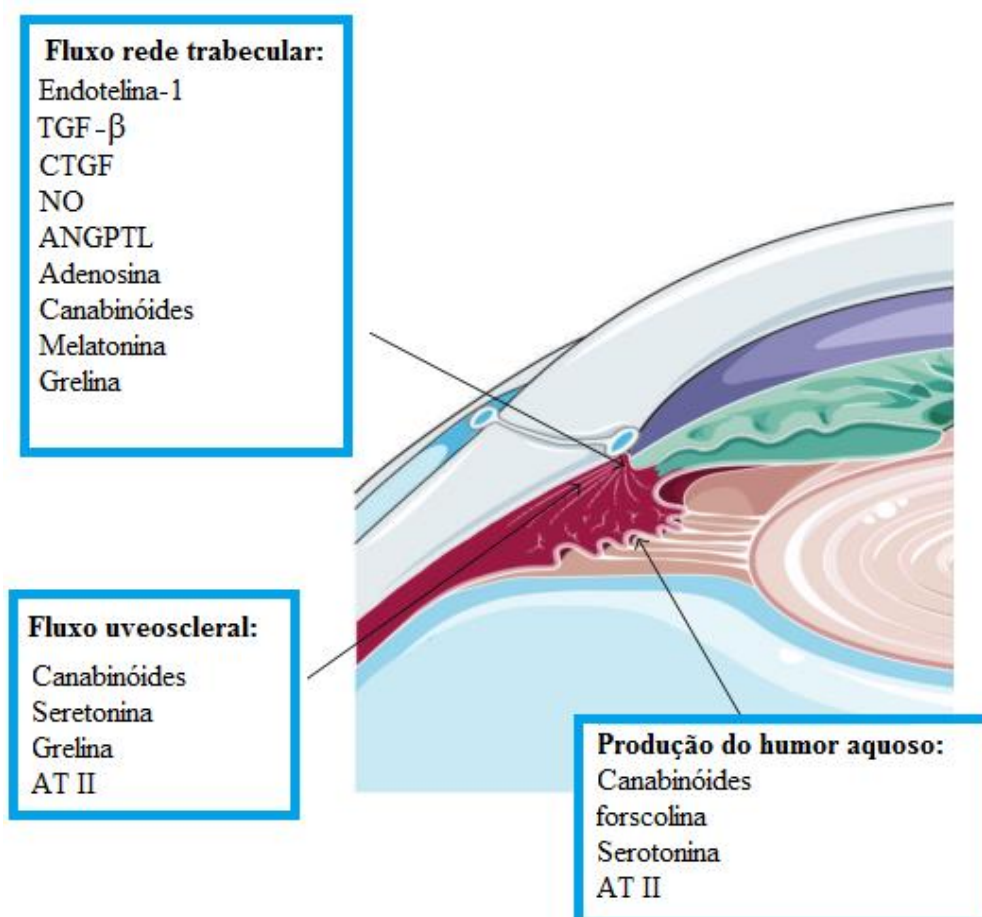


Figura 5.1: Novos agentes terapêuticos indicados para a redução da IOP (adaptado de [72]).

#### a) Rho quinase (ROCK)

Os inibidores da Rho-quinase têm como alvo as células trabeculares e atuam de forma a proporcionar um melhor fluxo do humor aquoso e simultaneamente têm demonstrado uma redução da “rigidez” celular. Estes fatores poderão levar a uma redução da IOP, o que se traduz numa melhor eficácia do tratamento. Os dados da investigação feita em torno destes agentes têm revelado um potencial neuro protetor e anti-inflamatório, bem como uma melhoria a nível do fluxo sanguíneo para o nervo ótico, apresentando assim benefícios para os doentes com glaucoma [67, 69-71]

Contudo, durante a investigação deste inibidor como potencial clínico no tratamento do glaucoma, vários problemas surgiram. Um deles está relacionado com a falta de especificidade destes inibidores, que em grande concentração podem inibir outras cinases. Um outro problema diz respeito à baixa tolerância que apresentam, uma vez que

inibidores ROCK podem resultar em vasodilatação, que leva a um aumento da quantidade de sangue circulante no olho. Como forma de resolver estes problemas, vários autores propõem como solução a associação com outros fármacos que reduzem IOP ou então o uso de um prófarmaco [72].

### **b) Fatores de crescimento (TGF- $\beta$ )**

TGF- $\beta$  é um grupo responsável pela regulação multifuncional de proteínas. São vários os processos celulares por ele influenciado, entre os quais: proliferação, reconhecimento, diferenciação e apoptose [65, 67].

As isoformas TGF- $\beta$ 1 e TGF- $\beta$ 2 têm demonstrado ser ótimos como potenciais modeladores da passagem do humor aquoso para as células da matriz e como potenciais provocadores de contração da rede trabecular, fazendo destas proteínas possíveis alvos no tratamento do glaucoma [72].

### **c) Adenosina**

Os recetores agonistas da adenosina, têm demonstrado potencial no tratamento do glaucoma, sendo capazes de aumentar a drenagem do humor aquoso, tendo portanto, como principal efeito a redução da pressão intraocular. São quatro os subtipos de recetores de adenosina que têm demonstrado capacidade terapêutica, sendo eles A1, A2a, agonistas e antagonistas A3 [69, 73].

Os agentes referidos anteriormente têm demonstrado potencial terapêutico e a sua eficácia pode ser melhorada se forem incluídos em sistemas nanoparticulados, atualmente é mais relevante e tem mostrado resultados mais promissores, o uso de nanopartículas [74, 75].

Apesar de serem já muitas as investigações feitas em torno do tratamento do glaucoma, bem como os avanços técnico-científico a que temos assistido, existem ainda muitas questões e detalhes que necessitam de ser aprofundados para assim resultarem num forte contributo para a melhoria da qualidade de vida destes doentes. É necessário esclarecer e documentar mais estudos, bem como realizar mais ensaios *in vivo* em modelos humanos, para que nas próximas décadas se desenvolvam tratamentos

inovadores e que estes possam estar ao dispor dos doentes para que estes possam usufruir de mais e melhor em saúde.

## **6. Conclusão**

A visão é considerada um dos mais interessantes sentidos que o corpo humano possui. Este sentido, fornece ao ser humano a capacidade de percepção do mundo ao seu redor, bem como a possibilidade de comunicação com outras pessoas, considerada por muitos investigadores como um tipo de linguagem. O olho é o órgão responsável pela visão e por todas as capacidades que ela é capaz de oferecer. É constituído por várias estruturas, que no seu conjunto, permitem ao cérebro descodificar a imagem que o olho está a observar. Entre as estruturas principais contam-se: a córnea, a pupila, a íris, a retina, o cristalino e o nervo ótico. Quando todos estes componentes funcionam normalmente, a imagem recebida pelo cérebro é uma imagem nítida e que reflete a realidade. No entanto, existem diversas doenças do foro ocular que distorcem a verdadeira imagem, uma das quais é o glaucoma. O glaucoma é uma doença neurodegenerativa caracterizada por um aumento da pressão intraocular, que quando não controlada pode levar a perda de visão acentuada. O risco de desenvolvimento desta doença ocular está relacionado com a idade, com questões genéticas e com a tendência da pessoa para ter uma pressão intraocular elevada. Atualmente, o tratamento passa pela aplicação tópica de colírios (tratamento de primeira linha) ou pela cirurgia. Os principais fármacos utilizados para o tratamento do glaucoma são o bimatoprost, o latanoprost, o travoprost, a brimonidina, dorzolamida e pilocarpina combinados com o timolol. Regra geral, só uma quantidade inferior a 5% dos fármacos oculares aplicados consegue ser absorvida pelo olho devido à difícil penetração através da mucosa ocular, sendo por tanto vários os avanços tecnológicos que incidem sobre este aspeto.

A nanotecnologia é uma área bastante estudada no que diz respeito à administração de fármacos. O uso de nanopartículas, lipossomas e dendrímeros para administração ocular tem, ao longo das últimas décadas, revelado avanços bastantes promissores. Estudos efetuados, revelaram que o encapsulamento de fármacos como brinzolamida, pilocarpina, dorzolamida e brimonidina em nanopartículas proporcionam oportunidades interessantes para a administração tópica de fármacos pela via ocular. O facto do encapsulamento do fármaco facilitar o seu transporte para os diversos compartimentos do olho, a possibilidade de controlar a sua administração, as suas propriedades muco adesivas que permitem um maior tempo de permanência das partículas na superfície da córnea e a redução da dose necessária para um tratamento

eficaz, são alguns dos aspetos que tornam interessante a administração de fármacos anti glaucomatosos em sistemas nanoparticulares. As características biocompatíveis e biodegradáveis dos lipossomas, permitem uma melhor adesão do fármaco à superfície da córnea, bem como aumentam o seu tempo de permanência na superfície ocular, tornando-se assim uma forma bastante útil e eficaz de administração de fármacos oftálmicos. Fármacos como o latanoprost a pilocarpina e o timolol têm sido encapsulados em lipossomas e estudado o seu efeito como redutores da IOP, tendo sido demonstrados que estas formulações apresentam uma maior eficácia de tratamento, quando comparadas com as fórmulas convencionais. No entanto, o seu curto tempo de semivida, a capacidade limitada de incorporar fármacos e problemas de esterilização têm sido algumas das desvantagens demonstradas no uso destas partículas. Paralelamente, também os dendrímeros têm sido investigados como sistema de administração ocular de fármacos. O facto de terem múltiplas extremidades, de possuírem uma melhor solubilidade em água, uma maior permeabilidade, biodisponibilidade e biocompatibilidade, fazem dos dendrímeros uma boa opção de escolha no sistema de transporte de fármacos usados para o tratamento do glaucoma. Os dendrímeros são especialmente usados para formular hidrogéis, e mesmo que ainda poucos, os estudos envolvendo fármacos usados no tratamento do glaucoma, como o timolol e a brimonidina têm revelado um forte potencial no uso destas formulações, uma vez que o transporte trans-corneal e a absorção da formulação pelos tecidos é mais eficaz.

Com os progressos da ciência dos últimos anos, estão a ser estudados outros agentes com propriedades interessantes no tratamento do glaucoma. Compostos como Rho-quinase, fatores de crescimento e adenosina têm revelado efeitos na diminuição da IOP e uma melhor eficácia quando encapsulados em nanopartículas tendo portanto tornado bastante promissores no tratamento desta doença.

O glaucoma é portanto uma doença, que tem suscitado um particular interesse na comunidade científica, tendo sido ao longo dos anos desenvolvidos cada vez mais estudo, no sentido de encontrar tratamentos mais eficazes para impedir a progressão da doença, não tendo até ao momento sido encontrada a sua cura.

## 7. Referências

- [1] R. Seeley, T. Stephens, and P. Tate, *Anatomia e Fisiologia*, 6ª Edição. 2003, pp. 475–558.
- [2] “The Human Eye, Its Functions, and Visual Impairment - American Foundation for the Blind.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.afb.org/info/the-human-eye-its-functions-and-visual-impairment/5>. [Consult.: 28-Jul-2014].
- [3] “Structure and Function of the Eyes: Biology of the Eyes: Merck Manual Home Edition.” [Em Linha]. Disponível na internet: [http://www.merckmanuals.com/home/eye\\_disorders/biology\\_of\\_the\\_eyes/structure\\_and\\_function\\_of\\_the\\_eyes.html](http://www.merckmanuals.com/home/eye_disorders/biology_of_the_eyes/structure_and_function_of_the_eyes.html). [Consult.: 28-Jul-2014].
- [4] K. Jonasova and Z. Kozmik, “Eye evolution: lens and cornea as an upgrade of animal visual system.,” *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2008, vol. 19, pp. 71–81.
- [5] K. Boyd and R. Maturi, “Retinal Detachment: What Is a Torn or Detached Retina?,” 2014. [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.geteyesmart.org/eyesmart/diseases/detached-torn-retina/>. [Consult.: 30-Jul-2014].
- [6] “Problemas e Doenças Oculares | SPO.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.spoftalmologia.pt/problemas-e-doencas-oculares/>. [Consult.: 30-Jul-2014].
- [7] E. E. Chang and J. L. Goldberg, “Glaucoma 2.0: neuroprotection, neuroregeneration, neuroenhancement.,” *Ophthalmology*, 2012, vol. 119, pp. 979–86.
- [8] M. S. Haleem, L. Han, J. van Hemert, and B. Li, “Automatic extraction of retinal features from colour retinal images for glaucoma diagnosis: a review.,” *Comput. Med. Imaging Graph.*, 2013, vol. 37, pp. 581–96.
- [9] R. N. Weinreb and P. T. Khaw, “Primary open-angle glaucoma.,” *Lancet*, 2004, vol. 363, pp. 1711–20.
- [10] K. Boyd, “Eye Smart - American Academy of Ophthalmology.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.geteyesmart.org/eyesmart/diseases/glaucoma/index.cfm#>. [Consult.: 09-Jul-2014].

- [11] “Primary Open-Angle Glaucoma | Glaucoma Research Foundation.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.glaucoma.org/glaucoma/primary-open-angle-glaucoma.php>. [Consult.: 31-Jul-2014].
- [12] “Glaucoma Research Foundation.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.glaucoma.org/>. [Consult.: 16-Jul-2014].
- [13] “WHO | Priority eye diseases.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.who.int/blindness/causes/priority/en/index6.html>. [Consult.: 08-Jun-2014].
- [14] “Are You at Risk For Glaucoma? | Glaucoma Research Foundation.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.glaucoma.org/glaucoma/are-you-at-risk-for-glaucoma.php>. [Consult.: 02-Ago-2014].
- [15] “Five Common Glaucoma Tests | Glaucoma Research Foundation.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.glaucoma.org/glaucoma/diagnostic-tests.php>. [Consult.: 02-Ago-2014].
- [16] T. S. Dietlein, M. M. Hermann, and J. F. Jordan, “The medical and surgical treatment of glaucoma.,” *Dtsch. Arztebl. Int.*, 2009, vol. 106, pp. 597–605.
- [17] “Medication Guide | Glaucoma Research Foundation.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.glaucoma.org/treatment/medication-guide.php>. [Consult.: 02-Ago-2014].
- [18] E. Ricciotti and G. A. FitzGerald, “Prostaglandins and inflammation.,” *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2011, vol. 31, pp. 986–1000.
- [19] “Glaucoma Treatment .” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.geteyesmart.org/eyesmart/diseases/glaucoma/treatment.cfm>. [Consult.: 14-Set-2014].
- [20] S. K. Sahoo, F. Dilnawaz, and S. Krishnakumar, “Nanotechnology in ocular drug delivery.,” *Drug Discov. Today*, 2008, vol. 13, pp. 144–51.
- [21] M. A. Zarbin, C. Montemagno, J. F. Leary, and R. Ritch, “Nanomedicine in ophthalmology: the new frontier.,” *Am. J. Ophthalmol.*, 2010, vol. 150, pp. 144–162.

- [22] M. A. Zarbin, C. Montemagno, J. F. Leary, and R. Ritch, "Nanomedicine for the treatment of retinal and optic nerve diseases.," *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2013, vol. 13, pp. 134–48.
- [23] Q. Xu, S. P. Kambhampati, and R. M. Kannan, "Nanotechnology approaches for ocular drug delivery.," *Middle East Afr. J. Ophthalmol.*, 2013, vol. 20, pp. 26–37.
- [24] K. Jain, *Drug Delivery System - Methods in Molecular Biology*, 2<sup>a</sup> ed. 2014.
- [25] Y. Diebold and M. Calonge, "Applications of nanoparticles in ophthalmology.," *Prog. Retin. Eye Res.*, 2010, vol. 29, pp. 596–609.
- [26] V. J. Mohanraj and Y. Chen, "Nanoparticles - A review," *Trop. J. Pharm. Res.*, 2006, vol. 5, pp. 561–573,.
- [27] R. C. Nagarwal, S. Kant, P. N. Singh, P. Maiti, and J. K. Pandit, "Polymeric nanoparticulate system: A potential approach for ocular drug delivery," *J. Control. Release*, vol. 136, pp. 2–13, 2009.
- [28] B. S. Zolnik, A. González-Fernández, N. Sadrieh, and M. A. Dobrovolskaia, "Nanoparticles and the immune system.," *Endocrinology*, 2010, vol. 151, pp. 458–65.
- [29] D. Thassu, M. Deleers, and Y. Pathak, *Nanoparticulate drug delivery systems*, 1<sup>a</sup> ed. 2007.
- [30] W. H. De Jong and P. J. A. Borm, "Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards.," *Int. J. Nanomedicine*, 2008, vol. 3, pp. 133–49.
- [31] A. Samad, Y. Sultana, and M. Aqil, "Liposomal Drug Delivery Systems: An Update Review," 2007.
- [32] P. R. Kulkarni, J. D. Yadav, and K. A. Vaidya, "Liposomes : a novel drug delivery system," 2011.
- [33] a. Laouini, C. Jaafar-Maalej, I. Limayem-Blouza, S. Sfar, C. Charcosset, and H. Fessi, "Preparation, Characterization and Applications of Liposomes: State of the Art," *J. Colloid Sci. Biotechnol.*, 2012, vol. 1, pp. 147-168.
- [34] A. Akbarzadeh, R. Rezaei-Sadabady, S. Davaran, S. W. Joo, N. Zarghami, Y. Hanifepour, M. Samiei, M. Kouhi, and K. Nejati-Koshki, "Liposome:

- classification, preparation, and applications.,” *Nanoscale Res. Lett.*, 2013, vol. 8, pp. 102.
- [35] B. Klajnert and M. Bryszewska, “Dendrimers: properties and applications.,” *Acta Biochim. Pol.*, 2001, vol. 48, pp. 199–208.
- [36] U. B. Kompella, A. C. Amrite, R. Pacha Ravi, and S. A. Durazo, “Nanomedicines for back of the eye drug delivery, gene delivery, and imaging.,” *Prog. Retin. Eye Res.*, 2013, vol. 36, pp. 172–98.
- [37] N. Kuno and S. Fujii, “Recent Advances in Ocular Drug Delivery Systems,” *Polymers (Basel)*, 2011, vol. 3, pp. 193–221.
- [38] S. Alqawlaq, J. T. Huzil, M. V Ivanova, and M. Foldvari, “Challenges in neuroprotective nanomedicine development: progress towards noninvasive gene therapy of glaucoma.,” *Nanomedicine (Lond)*, 2012, vol. 7, pp. 1067–83.
- [39] I. Januleviciene, L. Siaudvytyte, and R. Barsauskaite, “Ophthalmic drug delivery in glaucoma-a review.,” *Pharmaceutics*, 2012, vol. 4, pp. 243–51.
- [40] I. C. Ramos, “Revisão da Literatura: Anatomia e Fisiologia da Córnea.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.eyevisio.com/revisao-da-literatura-anatomia-e-fisiologia-da-cornea/>. [Consult.: 11-Set-2014].
- [41] I. P. Kaur and S. Kakkar, “Nanotherapy for posterior eye diseases.,” *J. Control. Release*, 2014.
- [42] M. J. Cima, H. Lee, K. Daniel, L. M. Tanenbaum, A. Mantzavinou, K. C. Spencer, Q. Ong, J. C. Sy, J. Santini, C. M. Schoellhammer, D. Blankschtein, and R. S. Langer, “Single compartment drug delivery.,” *J. Control. Release*, 2014, vol. 190, pp. 157–171.
- [43] S. P. Chaplot and I. D. Rupenthal, “Dendrimers for gene delivery--a potential approach for ocular therapy?,” *J. Pharm. Pharmacol.*, 2014, vol. 66, pp. 542–56.
- [44] A. Bochot and E. Fattal, “Liposomes for intravitreal drug delivery: a state of the art.,” *J. Control. Release*, 2012, vol. 161, pp. 628–34.
- [45] M. de la Fuente, M. Raviña, P. Paolicelli, A. Sanchez, B. Seijo, and M. J. Alonso, “Chitosan-based nanostructures: a delivery platform for ocular therapeutics.,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2010, vol. 62, pp. 100–17.

- [46] S. Das and P. K. Suresh, "Drug delivery to eye: Special reference to nanoparticle.," *Int. J. Drug Deliv.*, 2010, vol. 2, pp. 12–21.
- [47] C. Guo, J. Wang, F. Cao, R. J. Lee, and G. Zhai, "Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery.," *Drug Discov. Today*, 2010, vol. 15, pp. 1032–40.
- [48] G. L. Nealon, R. Greget, C. Dominguez, Z. T. Nagy, D. Guillon, J.-L. Gallani, and B. Donnio, "Liquid-crystalline nanoparticles: Hybrid design and mesophase structures.," *Beilstein J. Org. Chem.*, 2012, vol. 8, pp. 349–70.
- [49] INFARMED, "Medicamentos usados em afecções oculares." [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.infarmed.pt/prontuario/framenavegaarvore.php?id=467>.
- [50] W. Wu, J. Li, L. Wu, B. Wang, Z. Wang, Q. Xu, and H. Xin, "Ophthalmic delivery of brinzolamide by liquid crystalline nanoparticles: in vitro and in vivo evaluation.," *AAPS PharmSciTech*, 2013, vol. 14, pp. 1063–71.
- [51] J. Li, L. Wu, W. Wu, B. Wang, Z. Wang, H. Xin, and Q. Xu, "A potential carrier based on liquid crystal nanoparticles for ophthalmic delivery of pilocarpine nitrate.," *Int. J. Pharm.*, 2013, vol. 455, pp. 75–84.
- [52] A. M. de Campos, Y. Diebold, E. L. S. Carvalho, A. Sánchez, and M. J. Alonso, "Chitosan nanoparticles as new ocular drug delivery systems: in vitro stability, in vivo fate, and cellular toxicity.," *Pharm. Res.*, 2004, vol. 21, pp. 803–10.
- [53] U. Shinde, M. H. Ahmed, and K. Singh, "Development of dorzolamide loaded 6-o-carboxymethyl chitosan nanoparticles for open angle glaucoma.," *J. Drug Deliv.*, 2013.
- [54] K. H. Singh and U. A. Shinde, "Chitosan nanoparticles for controlled delivery of brimonidine tartrate to," 2011, vol. 66, pp. 594-599.
- [55] A. Taluja, Y. S. Youn, and Y. H. Bae, "Novel approaches in microparticulate PLGA delivery systems encapsulating proteins," *J. Mater. Chem.*, 2007, vol. 17, pp. 4002-14.
- [56] J. Mealy, "Development of a PLGA-based, brimonidine releasing film for use in glaucoma treatments.," pp. 1–2.

- [57] J. V Natarajan, M. Ang, A. Darwitan, S. Chattopadhyay, T. T. Wong, and S. S. Venkatraman, "Nanomedicine for glaucoma: liposomes provide sustained release of latanoprost in the eye.," *Int. J. Nanomedicine*, 2012, vol. 7, pp. 123–31.
- [58] "Surfactante pulmonar." [Em Linha]. Disponível na internet: <http://biomodel.uah.es/model2/lip/surfactante.htm>. [Consult.: 07-Set-2014].
- [59] J. V Natarajan, S. Chattopadhyay, M. Ang, A. Darwitan, S. Foo, M. Zhen, M. Koo, T. T. Wong, and S. S. Venkatraman, "Sustained release of an anti-glaucoma drug: demonstration of efficacy of a liposomal formulation in the rabbit eye.," *PLoS One*, 2011, vol. 6, pp. 10.
- [60] a S. Monem, F. M. Ali, and M. W. Ismail, "Prolonged effect of liposomes encapsulating pilocarpine HCl in normal and glaucomatous rabbits.," *Int. J. Pharm.*, 2000, vol. 198, pp. 29–38.
- [61] INFARMED, "Medicamentos usados no tratamento do glaucoma - Bloqueadores Beta." [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.infarmed.pt/prontuario/framenavegaarvore.php?id=322>. [Consult.: 07-Set-2014].
- [62] M. W. Shafaa, N. M. Sabra, and R. a Fouad, "The extended ocular hypotensive effect of positive liposomal cholesterol bound timolol maleate in glaucomatous rabbits.," *Biopharm. Drug Dispos.*, 2011, vol. 32, pp. 507–17.
- [63] B. Yavuz, S. B. Pehlivan, and N. Unlü, "Dendrimeric systems and their applications in ocular drug delivery.," *ScientificWorldJournal.*, 2013, vol. 2013, pp. 13.
- [64] G. Spataro, F. Malecaze, C.-O. Turrin, V. Soler, C. Duhayon, P.-P. Elena, J.-P. Majoral, and A.-M. Caminade, "Designing dendrimers for ocular drug delivery.," *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, vol. 45, pp. 326–34.
- [65] C. A. Holden, P. Tyagi, A. Thakur, R. Kadam, G. Jadhav, U. B. Kompella, and H. Yang, "Polyamidoamine dendrimer hydrogel for enhanced delivery of antiglaucoma drugs.," *Nanomedicine*, 2012, vol. 8, pp. 776–83.
- [66] S. Tripathy and M. K. Das, "Dendrimers and their Applications as Novel Drug Delivery Carriers," 2013, vol. 3, pp. 142–149.
- [67] T. F. Vandamme and L. Brobeck, "Poly(amidoamine) dendrimers as ophthalmic vehicles for ocular delivery of pilocarpine nitrate and tropicamide.," *J. Control. Release*, 2005, vol. 102, pp. 23–38.

- [68] H. Yang and P. Tyagi, “Hybrid dendrimer hydrogel/PLGA nanoparticle platform sustains drug delivery for one week and antiglaucoma effects for four days following one-time topical administration.”, 2012.
- [69] H. Yang and C. T. Leffler, “Hybrid dendrimer hydrogel/poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticle platform: an advanced vehicle for topical delivery of antiglaucoma drugs and a likely solution to improving compliance and adherence in glaucoma management.” *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, 2013, vol. 29, pp. 166–72.
- [70] J. Wierzbowska, J. Robaszkiewicz, M. Figurska, and A. Stankiewicz, “Future possibilities in glaucoma therapy.” *Med. Sci. Monit.*, 2010, vol. 16, pp. 252–9.
- [71] I. Goldberg, R. N. Weinreb, and T. Zimmerman, “Glaucoma in the 21st Century,” *Asian J. Ophthalmol.*, 1999.
- [72] A. Rocha-Sousa, J. Rodrigues-Araújo, P. Gouveia, J. Barbosa-Breda, S. Azevedo-Pinto, P. Pereira-Silva, and A. Leite-Moreira, “New therapeutic targets for intraocular pressure lowering.” *ISRN Ophthalmol.*, 2013.
- [73] L. M. Brandão and M. C. Grieshaber, “Update on Minimally Invasive Glaucoma Surgery (MIGS) and New Implants.” *J. Ophthalmol.*, 2013, pp. 12.
- [74] X. Chen, X. Zhu, L. Li, G. Xian, W. Wang, D. Ma, and L. Xie, “Investigation on novel chitosan nanoparticle-aptamer complexes targeting TGF- $\beta$  receptor II.” *Int. J. Pharm.*, 2013, vol. 456, pp. 499–507.
- [75] K. Zhang, L. Zhang, and R. N. Weinreb, “Ophthalmic drug discovery: novel targets and mechanisms for retinal diseases and glaucoma.” *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2012, vol. 11, pp. 541–59.
- [76] “New Class of Glaucoma Drugs on the Horizon | Glaucoma Research Foundation.” [Em Linha]. Disponível na internet: <http://www.glaucoma.org/treatment/new-class-of-glaucoma-drugs-on-the-horizon.php>. [Consult.: 10-Set-2014].
- [77] P. Bettin and F. Di Matteo, “Glaucoma: present challenges and future trends.” *Ophthalmic Res.*, 2013, vol. 50, pp. 197–208.